



**You have downloaded a document from
RE-BUS
repository of the University of Silesia in Katowice**

Title: Oddziaływanie β -cyklodekstryny z lipidami i nanostrukturami węglowymi – symulacje komputerowe

Author: Damian Makiela

Citation style: Makiela Damian. ([2019]). Oddziaływanie β -cyklodekstryny z lipidami i nanostrukturami węglowymi – symulacje komputerowe. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersytet ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

UNIwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Matematyki Fizyki i Chemii
Instytut Fizyki im. Augusta Chełkowskiego

Oddziaływanie β -cyklodekstryny
z lipidami i nanostrukturami
węglowymi – symulacje
komputerowe

Damian Makiela

Rozprawa doktorska z dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych
w dyscyplinie nauk fizycznych

Promotor: prof. dr hab. Zygmunt Gburski

Promotor pomocniczy: dr Krzysztof Górny

Podziękowania

Chciałbym podziękować mojemu promotorowi profesorowi dr hab. Zygmuntowi Gburskiemu, doktorowi Krzysztofowi Górnemu oraz innym członkom zespołu za ich pomoc, liczne oraz cenne wskazówki merytoryczne, cierpliwość i zrozumienie.

Spis treści

Podziękowania	i
1 Wstęp	1
2 Symulacje komputerowe	2
2.1 Historia symulacji komputerowych	3
2.2 Metoda dynamiki molekularnej (MD)	4
2.3 Algorytmy dynamiki molekularnej	8
2.4 Wybrane metody analizy wyników symulacji MD	12
3 Własności fizyko-chemiczne badanych materiałów	16
3.1 Cyklodekstryny	16
3.2 Cholesterol	21
3.3 Grafen	23
3.4 Lipidy	24
3.5 Surfaktanty	24
3.6 Micele	26
3.7 Błona komórkowa	27
4 Wpływ β-cyklodekstryny na zióg cholesterolowy	30
5 Dynamika molekuł β-cyklodekstryny na warstwie grafenowej	48
6 Micele fosfolipidowe z udziałem β-cyklodekstryny	65
7 Wpływ β-cyklodekstryny na biomembranę	72
8 Podsumowanie	79
Spis rysunków	82
A Spis publikacji	86
B Spis konferencji	87
Bibliografia	88

Rozdział 1

Wstęp

Związek chemiczny β -cyklodekstryna z rodziny oligosacharydów, wysoce kompatybilny z układami biologicznymi, wzbudza duże zainteresowanie z uwagi na jego potencjalne zastosowania w medycynie, przemyśle farmakologicznym i spożywczym. Celem podjętej pracy doktorskiej jest zbadanie możliwości wykorzystania β -cyklodekstryny do rozpuszczania złożeń cholesterolowych oraz jako składnika kompozytowych nośników leków. Zasadnicza część rozprawy obejmuje analizę oddziaływania β -cyklodekstryny z lipidami i nanostrukturami węglowymi w środowisku wodnym. W badaniach jest stosowana technika symulacji komputerowych MD (molecular dynamics), która pozwala uzyskać wgląd w dynamikę danego układu na poziomie atomowym lub molekularnym. Umożliwia to na przykład wstępne wybranie kandydatów na składniki leków nowej generacji, ograniczając koszty badań eksperymentalnych. Zbadanie rozpuszczalności złożeń cholesterolowych przez β -cyklodekstrynę oraz stabilności tworzonych kompleksów ma istotne znaczenie dla poszukiwania nowych terapii arteriosklerozy. Wykonane symulacje komputerowe dotyczą również problemu zwiększenia biokompatybilności grafenu, rozpatrywanego jako istotny element nośników leków lub narzędzi medycznych, poprzez pokrycie jego powierzchni warstwą β -cyklodekstryny. Częściowe, etapowe wyniki badawcze były sukcesywnie publikowane w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. W kolejnych rozdziałach przedstawiony zostanie szczegółowy opis i rezultaty wykonanych prac badawczych.

Rozdział 2

Symulacje komputerowe

Symulacje komputerowe polegają na obliczeniach numerycznych z wykorzystaniem modelu danego zjawiska czy procesu, zapisanego w formie programu komputerowego. Są one wykorzystywane tam, gdzie rozwiązanie analityczne byłoby zbyt pracochłonne bądź niemożliwe, co ma często miejsce w układach złożonych. Symulacje dostarczają danych do weryfikacji teorii przybliżonych, umożliwiają także porównanie tworzonych modeli z danymi eksperymentalnymi. Wypełniają one lukę między eksperymentem a teorią. Część wielkości jest niemożliwa lub trudna do ilościowego pomiaru eksperymentalnego, zaś w procesie symulacji komputerowej dają się obliczyć. Symulacje komputerowe można wielokrotnie powtarzać, zmieniając za każdym razem parametry układu, w celu obserwacji i analizy wpływu tych zmian na przebieg zjawiska. Istnieją dwie główne grupy metod symulacyjnych:

- deterministyczne
- stochastyczne

Metody deterministyczne to takie, dla których należy sprecyzować równania ruchu i całkować je po czasie, co w przypadku zbioru cząstek podlegających prawom mechaniki klasycznej prowadzi do trajektorii w przestrzeni fazowej przy ustalonych położeniach początkowych i pędach. Do tych metod zalicza się dynamikę molekularną (MD).

Metody stochastyczne działają w oparciu o teorię prawdopodobieństwa i mechanikę statystyczną. Jednym z podstawowych elementów tego typu symulacji jest koncepcja łańcucha Markowa. Metodą tą nie obliczymy trajektorii (ewolucji czasowej) poszczególnych cząstek układu. Przykładem metody stochastycznej jest symulacja Monte Carlo (MC) [1].

2.1 Historia symulacji komputerowych

Symulacje komputerowe są młodą dziedziną wiedzy, której początki sięgają 1953 roku kiedy N. Metropolis, A. Rozenbluth, M. Rozenbluth, M. Teller i E. Teller [2], zaproponowali użycie metody Monte Carlo (opartej o proces Markowa oraz generator liczb losowych) [3, 4], do prowadzenia obliczeń numerycznych o charakterze probabilistycznym na dostępnych wówczas "elektronowych" (triody lampowe) maszynach liczących wczesnej generacji o nazwie Maniac I.

Wkrótce potem, w 1955 r Fermi, Pasta i Ulam [5] wykorzystali Maniac I do analizy, jak anharmoniczny układ krystaliczny 1D dochodzi do stanu równowagi termodynamicznej. W 1959 roku B. Alder oraz T. E. Wainwright [6] użyli maszyny liczącej IBM 704 do symulacji elastycznych kolizji pomiędzy twardymi kulami (hard spheres), a także podjęli numeryczne badania termodynamiki statystycznej stanów nierównowagowych. W roku 1964 A. Rahman z Argonne National Laboratory [7] po raz pierwszy wykonał symulację komputerową dynamiki 128 atomów argonu w stanie ciekłym, z użyciem potencjału Lennarda-Jonesa. Kolejną przełomową datą w symulacjach dynamiki molekularnej jest rok 1967 i cykl prac L. Verleta [8, 9]. Pokazał on jak powiązać wyniki symulacji komputerowych z danymi eksperymentalnymi oraz wymyślił pierwsze wydajne algorytmy do symulacji dynamiki molekularnej (algorytm Verleta, lista Verleta), które są dzisiaj podstawowymi narzędziami w tej dziedzinie. W 1970 roku A. Rahman i F. H. Stillinger [10] wykonali symulacje układu molekularnego – zbadali dynamikę molekuł wody. W roku 1980 A. Andersen [11] wprowadził do symulacji barostat, z kolei trzy lata później Nose

i Hoover posłużyli się termostatem [12, 13]. W 1985 roku Car i Parinello zrealizowali koncepcję kwantowych symulacji "ab initio" [14]. Metoda ta w odróżnieniu od dynamiki klasycznej, umożliwia opis tworzenia i zrywania wiązań chemicznych.

2.2 Metoda dynamiki molekularnej (MD)

Metoda dynamiki molekularnej służy do obliczania trajektorii w przestrzeni fazowej zbioru cząstek (atomów lub molekuł), z których każda oddzielnie podlega klasycznym równaniom ruchu, a wielkości makroskopowe opisujące stan układu oblicza się jako średnie po trajektorii w przestrzeni fazowej. Z tego względu dynamika molekularna jest metodą pośrednią między mechaniką kwantową a metodami mezoskopowymi, które wiążą atomy w większe, klastrowe zbiory. Zaletą symulacji jest to, że możemy je wielokrotnie powtarzać, zmieniając za każdym razem parametry, oraz obserwować i analizować wpływ tych zmian na przebieg zjawiska. W szczególności, symulacje MD są bardzo skuteczne, jeśli chodzi o badania nanoukładów.

Korzystając z dynamiki molekularnej należy stworzyć atomowy model analizowanej substancji, a następnie opisać dynamikę układu za pomocą oddziaływań międzyatomowych. Model cząsteczek substancji zawiera dane o ułożeniu przestrzennym atomów, ich masach, położeniach oraz wartościach i rozmieszczeniu cząstkowych ładunków elektrycznych w cząsteczce. W zależności od badanego zjawiska i postaci substancji, budując model molekuly przyjmuje się niekiedy uproszczenia, który zachowują jednak najważniejsze informacje o jej strukturze tj. cechy istotne z punktu widzenia badanego zjawiska. O ważności poszczególnych cech można wnioskować na podstawie znanych danych eksperymentalnych.

Opis działania metody MD:

- symulację zaczyna się od nadania cząstkom początkowych położenia oraz prędkości;

- oblicza się (w każdym kroku czasowym) dla każdej cząstki działającą na nią siłę pochodzącą od pozostałych cząstek;
- korzystając z obliczonych sił i znając położenia cząstek w poprzednim kroku, oblicza się nowe położenia i pędy każdej cząstki numerycznie rozwiązując równania ruchu;
- po wyznaczeniu parametrów mikroskopowych w stanie równowagi termodynamicznej (prędkości i położenia), jesteśmy w stanie wyznaczyć wartości średnie rozmaitych wielkości makroskopowych (np. temperaturę, energię kinetyczną i całkowitą, ciepło właściwe itd.) poprzez uśrednienie po zespole statystycznym.

Początkowe położenia cząstek pobierane są z wcześniejszych symulacji bądź wybiera się je zwykle jako punkty siatki (węzły sieci) gęsto upakowanej struktury, na przykład fcc. Prędkości początkowe cząstek losuje się zgodnie z rozkładem Boltzmanna dla ustalonej temperatury. Czas w metodzie MD podlega podziałowi na dyskretne kroki czasowe. Siły działające na atomy obliczone są na podstawie przyjętego potencjału oddziaływania.

Powstało wiele fenomenologicznych potencjałów, które uwzględniają różne aspekty badanego układu i opisują go z różną dokładnością. W danym przypadku opisuje on z pewnym przybliżeniem zespół oddziaływań, występujących w badanym układzie. Dla układów biologicznych najczęściej stosuje się potencjały CHARMM [15, 16] oraz AMBER [17, 18]. W prezentowanych badaniach używano potencjału CHARMM którego postać wygląda następująco.

$$\begin{aligned}
 V = & \sum_b K_b(b - b_0)^2 + \sum_\theta K_\theta(\theta - \theta_0)^2 + \sum_\chi K_\chi(1 + \cos(n\chi - \delta)) \\
 & + \frac{1}{2} \sum_i \sum_{j \neq i} \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{1}{2} \sum_i \sum_{j \neq i} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} .
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

Pierwszy człon powyższego wyrażenia opisuje wkład do potencjału V molekuly związany z długością wiązań, gdzie b to odległość aktualna, a b_0 oznacza odległość równowagową. Drugi człon odnosi się do zmian kąta pomiędzy dwoma wiązaniami, gdzie θ to kąt aktualny, zaś θ_0 oznacza kąt równowagowy. Kolejny człon dotyczy kąta torsyjnego, pomiędzy płaszczyznami wyznaczonymi przez trzy kolejne wiązania, gdzie n jest to współczynnik symetrii, χ oznacza kąt dwuścienny, a δ jest przesunięciem fazowym. Przedostatni wyraz to człon Lenarda-Jonesa, który opisuje oddziaływania między atomami. Opisuje on oddziaływania typu Wandaersa, gdzie ϵ jest głębokością studni potencjału, r_{ij} – odległością między środkami cząsteczek, σ – odległością, przy której $V=0$. Pierwszy człon tego wyrażenia opisuje odpychania, a drugi przyciągania międzyatomowe. Ostatni człon powyższego wyrażenia opisuje oddziaływania elektrostatyczne pomiędzy wszystkimi parami atomów i, j . Pozostałe wielkości występujące we wzorze to parametry potencjału. Typowa próbka numeryczna w symulacji zawiera kilka tysięcy cząstek i jest to niewielka ilość w porównaniu z liczbą molekuł w próbkach mierzonych eksperymentalnie. Badania numeryczne układów złożonych z małej liczby cząstek są narażone na duży błąd statystyczny oraz na problemy wynikające z niesymetryczności sił, która powstaje na brzegu skończonego układu. Aby zapobiec tym problemom oraz zminimalizować błędy statystyczne, wprowadza się nieskończony układ periodyczny. Symuluje on nieskończony układ cząstek dzięki powieleniu pierwotnego, skończonego układu na każdym brzegu systemu. Dynamika takiego układu realizowana jest przez prostą procedurę; każdą molekułę, której tor ruchu wykracza poza objętość podstawowego układu molekuł, przenosi się do sąsiedniego układu. Dzięki temu, że wszystkie układy są identyczne z macierzystym, położenie tej molekuly jest transformowane do wyjściowego układu, w miejsce odpowiadające współrzędnym układu sąsiedniego. Periodyczne warunki brzegowe pozwalają na symulowanie niewielkich układów cząstek w taki sposób, aby ich zachowanie było jak najbardziej zbliżone do rzeczywistości, jednocześnie unikając żmudnych obliczeń wielkich układów cząstek w skończonej objętości.

Ze względu na koszt czasowy obliczeń definiuje się tzw. promień obcięcia, w którego

zasięgu oddziaływania są liczone. Oznacza to, że oddziaływania molekuł oddalonych od siebie o więcej niż promień obcięcia są zaniedbywane. Nie koliduje to z charakterem tych oddziaływań, które zanikają wraz z odległością z potęgą większą niż trzecia. Wielkość promienia obcięcia można wprowadzić do obliczeń definiując go *explicite*, bądź opierając się na zaproponowanym w kodzie algorytmie. Obcięcie oddziaływań zmienia wartości parametrów układu takich jak np. energia potencjalna czy ciśnienie, które zależą od wartości sił międzycząsteczkowych i liczone przy pełnym zasięgu oddziaływań mają inną wartość. W celu zniwelowania tych różnic wprowadza się zmianę w sposobie liczenia tych parametrów poprzez przybliżenie sił w obszarze powyżej promienia obcięcia. Należy nadmienić, że promień obcięcia wyznacza rejon liczonych oddziaływań krótko-zasięgowych i daleko-zasięgowych oddziaływań elektrostatycznych. Daleko-zasięgowe oddziaływania elektrostatyczne oblicza się za pomocą takich algorytmów jak sumowanie Ewalda [19–21] czy Particle Mesh Ewald (PME) [22].

Do kontroli temperatury układu stosuje się kilka algorytmów używanych zamiennie. Popularne techniki kontroli temperatury obejmują przeskalowanie prędkości, termostat Nosé-Hoover, termostat Berendsen i dynamikę Langevina [1, 23–25]. Działanie każdego z nich polega na wprowadzeniu dodatkowego czynnika modyfikującego wektory prędkości cząstek do równań ruchu bądź zastosowanie bezpośredniego skalowania prędkości molekuł. Dzięki kontroli prędkości molekuł uzyskujemy kontrolę nad energią kinetyczną układu wyznaczającą temperaturę. Jednak ingerencja w równania ruchu może w pewnych przypadkach wywołać artefakty fizyczne takie, jak oscylacyjne zmiany w układzie molekuł wywołane okresowością zmiennej skalującej. Algorytm bezpośredniego skalowania prędkości molekuł ma pewną przewagę nad innymi, mimo że jest niefizyczny, gdyż nie ingeruje bezpośrednio w równania ruchu układu, czyli w charakter jego dynamiki. Stosując go, cyklicznie skalujemy wszystkie prędkości molekuł przez odpowiednią zmienną zależną od pożądanej temperatury. Ze względu na zewnętrzną, jak i wewnętrzną ingerencję w układ, termostatowanie wykonuje się tylko w początkowej fazie symulacji, gdy układ dochodzi do stanu równowagi termodynamicznej. W momencie osiągnięcia stanu równowagi, dalsze zmiany temperatury wynikające z błędów numerycznych

można kontrolować wprowadzając termostatowanie tylko co pewien czas w trakcie symulacji, wyrównując temperaturę do pożądanej wysokości.

W celu kontroli naprężenia i ciśnienia w układzie cząstek wykorzystuje się algorytmy: Berendsen, Parinello-Rachman, Hover lub barostat Langevina [24, 25]. Polegają one na automatycznej zmianie objętości w kierunkach największych naprężeń. Układ zmieniając objętość zachowuje narzucone mu początkowo parametry, a możliwość zablokowania pewnych kierunków umożliwia kontrolę jakościową procesu.

Zaletą MD w porównaniu z typową metodą stochastyczną jest to, że może dostarczyć informacji na temat zależności czasowych w układzie, które są konieczne przy analizie strukturalnych i dynamicznych własności układu. MD jest preferowaną metodą w symulacjach komputerowych układów wielu (kilkuset do kilku milionów) cząstek.

2.3 Algorytmy dynamiki molekularnej

Głównym elementem programu do symulacji dynamiki molekularnej jest algorytm służący do rozwiązywania różniczkowych równań ruchu oddziałujących cząstek. Krok czasowy musi być wyraźnie mniejszy niż okres najszybszych drgań w cząsteczce. Jego typowa wartość to 1 fs (femtosekunda). Znając położenia poszczególnych cząstek i ich kolejne pochodne po czasie t , algorytm umożliwia wyznaczenie tych samych wielkości w kolejnym kroku czasowym $t + \Delta t$.

Najprostszym przypadkiem algorytmu dynamiki molekularnej jest zastosowanie do obliczania sił równania ruchu Newtona:

$$\vec{F}_i(t) = m_i \vec{a}_i(t) , \quad (2.2)$$

gdzie: F_i jest siłą, m_i masą, a_i przyspieszeniem i -tego atomu.

Siła działająca na i -ty atom może być obliczona bezpośrednio poprzez różniczkowanie funkcji energii potencjalnej V po położeniu r_i .

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2} = -\nabla_i V(t) . \quad (2.3)$$

Powyższe równania to klasyczne równania deterministyczne, co oznacza, że jeśli znamy warunki początkowe, dla dowolnej chwili czasowej t potrafimy obliczyć położenia i prędkości atomów. Znając położenia i prędkości atomów w chwili t , obliczamy położenia i prędkości w chwili $t + \Delta t$. Najczęstszą metodą całkowania równań ruchu jest algorytm Verleta [8], który bazuje na rozwinięciu szeregu Taylora w dwóch chwilach czasowych:

$$\vec{r}(t - \Delta t) = \vec{r}(t) - \vec{v}(t)\Delta t + \frac{1}{2} \vec{a}(t)\Delta t^2 - O(\Delta t^3) , \quad (2.4)$$

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \vec{v}(t)\Delta t + \frac{1}{2} \vec{a}(t)\Delta t^2 + O(\Delta t^3) . \quad (2.5)$$

Dodanie obu wyrażeń stronami daje:

$$\vec{r}(t + \Delta t) = 2\vec{r}(t) - \vec{r}(t - \Delta t) + \vec{a}(t)\Delta t^2 + O(\Delta t^4) . \quad (2.6)$$

Do wyznaczenia nowego położenia cząsteczki należy znać jej bieżące położenie i poprzednie oraz przyspieszenie. Prędkości nie są potrzebne, aby wyznaczyć trajektorię, zaś konieczne są do obliczenia np. energii kinetycznej. Możemy je otrzymać z wzoru:

$$\vec{v}(t) = \frac{\vec{r}(t + \Delta t) - \vec{r}(t - \Delta t)}{2\Delta t} . \quad (2.7)$$

Krok czasowy Δt jest ważnym parametrem każdej symulacji dynamiki molekularnej, dobierając go możemy kierować prędkością i stabilnością obliczeń. Metoda powyższa jest często niestabilna numerycznie i najlepiej posłużyć się prędkościową

wersją algorytmu Verleta (velocity Verlet). Obliczenia są wykonywane w następującej kolejności:

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \vec{v}(t)\Delta t + \frac{1}{2}\vec{a}(t)\Delta t^2 , \quad (2.8)$$

$$\vec{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t) = \vec{v}(t) + \frac{1}{2}\vec{a}(t)\Delta t , \quad (2.9)$$

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \vec{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t) + \frac{1}{2}\vec{a}(t + \Delta t)\Delta t . \quad (2.10)$$

W tej metodzie prędkość w kolejnym kroku czasowym obliczana jest w dwóch etapach. W pierwszym, prędkość wyznacza się w oparciu o aktualne przyspieszenie, w drugim dodaje się poprawkę ze względu na przyspieszenie w kolejnym kroku. W porównaniu z poprzednimi metodami, zaletą tego algorytmu jest jej stabilność oraz sposób wyznaczania prędkości. Algorytm Verleta jest odwracalny w czasie, całkowita energia układu fluktuuje wokół pewnej stałej wartości bliskiej początkowej energii całkowitej.

Systemy badane za pomocą dynamiki molekularnej nie występują zwykle samodzielnie. W prawdziwym świecie cząsteczki rozpuszczalnika lub powietrza powodują tarcie, a sporadyczne zderzenia z dużą prędkością zakłócać ruch systemu. Dynamika Langevina próbuje rozszerzyć dynamikę molekularną aby uwzględnić te efekty. Pozwala również kontrolować temperaturę jak termostat, przybliżając w ten sposób zespół kanoniczny NVT. Dynamika Langevina nie modeluje w pełni domniemanego rozpuszczalnika. W szczególności model nie uwzględnia ekranowania elektrostatycznego, a także efektu hydrofobowego. Paul Langevin dodał losową siłę dla układu N cząstek, która stanowi zależną od czasu zmienną losową. Otrzymane równanie Langevina można wykorzystać do rozwiązania problemu N -ciał.

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2} = -\nabla_i V(t) - \gamma m_i \frac{d \vec{r}_i(t)}{dt} + \sqrt{2\gamma k_B T m_i} R(t) , \quad (2.11)$$

gdzie T jest temperaturą, k_B jest stałą Boltzmanna, γ jest współczynnikiem tłumienia, a $R(t)$ jest stacjonarnym procesem Gaussa.

$$\begin{aligned}\langle R(t) \rangle &= 0 \\ \langle R(t)R(t') \rangle &= \delta(t - t') ,\end{aligned}\tag{2.12}$$

gdzie δ jest deltą Diraca. Metoda Brünger-Brooks-Karplus (BBK) [26] zaimplementowana w programie NAMD łączy prędkością wersję algorytmu Verleta z termostatem Langevina.

$$\begin{aligned}\vec{r}_i(t + \Delta t) &= \vec{r}_i(t) + \frac{1 - \gamma \frac{\Delta t}{2}}{1 + \gamma \frac{\Delta t}{2}} (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(t - \Delta t)) + \\ &+ \frac{1}{1 + \gamma \frac{\Delta t}{2}} \Delta t^2 [\vec{a}_i(t) + \sqrt{\frac{2\gamma k_B T}{m_i}} R(t)] .\end{aligned}\tag{2.13}$$

Aby uzyskać stochastyczne zachowanie temperatury, bardzo ważne jest, aby generator liczb pseudolosowych był dobrej jakości z jednostajnym rozkładem zmiennej losowej.

W symulacji MD ciśnienie można kontrolować poprzez skalowanie objętości komórki symulacyjnej. Zazwyczaj ciśnienie uzyskuje się w symulacjach MD z twierdzenia o wiriale jako

$$P(t) = \frac{1}{V(t)} \left(N k_B T + \frac{1}{3} \sum_{i>j} \vec{F}_{ij} \cdot \vec{r}_{ij} \right) ,\tag{2.14}$$

gdzie P jest ciśnieniem, V jest objętością, F_{ij} oznacza siłę oddziaływania par atomów, a r_{ij} jest odległością pomiędzy oddziałującymi atomami.

Algorytm Nosé-Hoover z tłokiem Langevina służący kontroli ciśnienia jest zaimplementowany w kodzie NAMD. Metoda Nose-Hoovera z tłokiem Langevina w

NAMD jest kombinacją metody stałego ciśnienia Nose-Hoover [27] i kontroli fluktuacji tłoka z wykorzystaniem dynamiki Langevina [28]. W metodzie tej, opartej na formalizmie rozszerzonego systemu wprowadzonym przez Andersena [11], deterministyczne równania ruchu dla stopnia swobody tłoka są zastępowane równaniem Langevina. W ten sposób jest on podobny do „algorytmu słabego sprzęgania” opracowanego przez Berendsena [29].

2.4 Wybrane metody analizy wyników symulacji MD

Wśród wielkości fizycznych, często obliczanych i analizowanych w tej pracy, należy tutaj wymienić i omówić funkcję radialnego rozkładu $g(r)$ oraz średnie kwadratowe przemieszczenie MSD. Funkcja radialnego rozkładu (RDF) określa prawdopodobieństwo znalezienia atomu w odległości z przedziału $(r, r+dr)$ od dowolnego atomu odniesienia.

$$g(r) = \int_r^{r+dr} 4\pi r^2 \rho(r) dr , \quad (2.15)$$

gdzie $\rho(r)$ to liczba atomów w jednostce objętości w odległości r od wybranego atomu odniesienia.

Oblicza się ją wybierając w rozważanej strukturze dowolny atom będący początkiem układu współrzędnych i kreśląc wokół niego sekwencję koncentrycznych sfer o promieniach wzrastających o Δr . Następnie w regularnych odstępach następuje zliczanie ilości atomów w każdej strefie. Otrzymany wykres przedstawia liczbę atomów w danej odległości od atomu centralnego. Położenia maksimów funkcji $g(r)$ odpowiadają średnim odległościom pierwszych, drugich i dalszych sąsiadów. Są to położenia tzw. stref koordynacyjnych.

Średnie kwadratowe przemieszczenie atomów (MSD) w symulacji komputerowej można zdefiniować wzorem:

$$\langle \Delta \vec{r}(t)^2 \rangle = \frac{1}{N} \left\langle \sum_{i=1}^N (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0))^2 \right\rangle, \quad (2.16)$$

gdzie, N jest liczbą cząstek, t odpowiada czasowi, a $(\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0))$ jest wektorem przemieszczenia i -tej cząstki/atomu.

MSD informuje o średniej odległości, jaką dana cząstka może pokonać w układzie. MSD zawiera również informacje na temat dyfuzji atomowej. Nachylenie funkcji MSD dla układu 3D jest związane z współczynnikiem dyfuzji D równaniem Einsteina

$$\langle \Delta \vec{r}(t)^2 \rangle = 6Dt. \quad (2.17)$$

Wykres MSD można podzielić na dwa obszary, reżim balistyczny i liniowy dyfuzyjny.

Aby zbadać stabilność termiczną symulowanego układu można obliczyć indeks Lindemanna [30]. Jest on zdefiniowany następująco

$$\delta_L = \frac{1}{N} \frac{1}{N-1} \sum_{i \neq j} \frac{\sqrt{\langle r_{ij}^2 \rangle - \langle r_{ij} \rangle^2}}{\langle r_{ij} \rangle}, \quad (2.18)$$

gdzie r_{ij} to odległość między środkiem masy i -tej i j -tej cząsteczki a nawiasy kątowne oznaczają średnią czasową. Indeks Lindemanna jest miarą nieporządku w układach atomistycznych lub molekularnych. Odejście od liniowości w zachowaniu indeksu Lindemanna lub wzrost powyżej wartości progowej (zazwyczaj 0.1) jest często uznawane za oznakę przejścia fazowego ciało stałe-ciecz [31]

Pierwiastek ze średniego kwadratu przesunięcia pozycji atomowych(RMSD) dany jest następującym wzorem:

$$RMSD(t) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0))^2}{N}}, \quad (2.19)$$

gdzie $\vec{r}_i(t)$ jest pozycją i -tego atomu w czasie t . Pozwala ona wyznaczyć podobieństwo (różnicę) między dwiema strukturami. Im większa wartość RMSD, tym bardziej różnią się porównywane struktury.

Wiązanie wodorowe to przykład specyficznego oddziaływania bliskiego zasięgu, które jest jednym z najbardziej fascynujących zjawisk występujących w przyrodzie. Zainteresowanie naturą tego wiązania, jest konsekwencją jego kluczowej roli w podstawowych procesach biologicznych i biochemicznych. Wiązanie wodorowe jest efektywnym wzajemnym oddziaływaniem pomiędzy atomem wodoru pochodzącym z molekuly lub fragmentu D-H molekuly (gdzie D jest bardziej elektroujemny niż H) i atomem A lub grupą atomów w tej samej lub innej molekule. Atomy D i H oddziałują ze sobą wiązaniem kowalencyjnym spolaryzowanym, co jest związane ze zmniejszeniem gęstości elektronowej w obszarze atomu wodoru i uzyskaniem cząstkowego ładunku dodatniego. Dzięki tej polaryzacji cząsteczka jest protonodorem i może oddziaływać z częścią innej molekuly posiadającej cząstkowy ładunek ujemny. Atomem D w wiązaniu wodorowym może być dowolny atom posiadający większą elektroujemność niż atom wodoru (N, O, C, P, S, Cl, Se, Br, I, F...). Protonoakceptor w mostku wodorowym musi mieć obszar bogaty w elektrony, może nim być atom A dysponujący wolną parą elektronową lub grupa atomów połączona elektronami π .

Wiązania wodorowe występują powszechnie w naturze. Dzięki istnieniu wiązań wodorowych możliwe jest tworzenie się struktur przestrzennych białek, kwasów nukleinowych i wielu innych złożonych tworów o dużym znaczeniu biologicznym. Badaniem takich struktur, opartych zwykle właśnie na wiązaniach wodorowych, zajmuje się chemia supramolekularna. W biologii wiązanie wodorowe pełni zasadniczą rolę, ponieważ wartość jego energii jest pośrednia pomiędzy oddziaływaniem van der Waalsa a wiązaniem kowalencyjnym. Wiązania wodorowe mogą stosunkowo szybko powstawać i zanikać, co ma szczególne znaczenie w reakcjach biochemicznych, które zachodzą zwykle w temperaturze pokojowej. Przykładem znaczenia wiązań wodorowych jest ich wpływ na budowę cząsteczki DNA, główny nośnik informacji genetycznej wszystkich organizmów żywych. Składa się ona z dwóch łańcuchów nukleotydowych, które są skręcone jeden dookoła drugiego,

tworząc podwójną helisę. Oba łańcuchy są utrzymywane razem przez wiązania wodorowe pomiędzy komplementarnymi parami zasad azotowych.

W omawianych tutaj badaniach przyjęto iż wiązanie wodorowe powstaje, gdy odległość D-A jest mniejsza niż odległość odcięcia (domyślnie 3.0 Å) a kąt D-A-H jest mniejszy niż kąt odcięcia (domyślnie 20 stopni) [32].

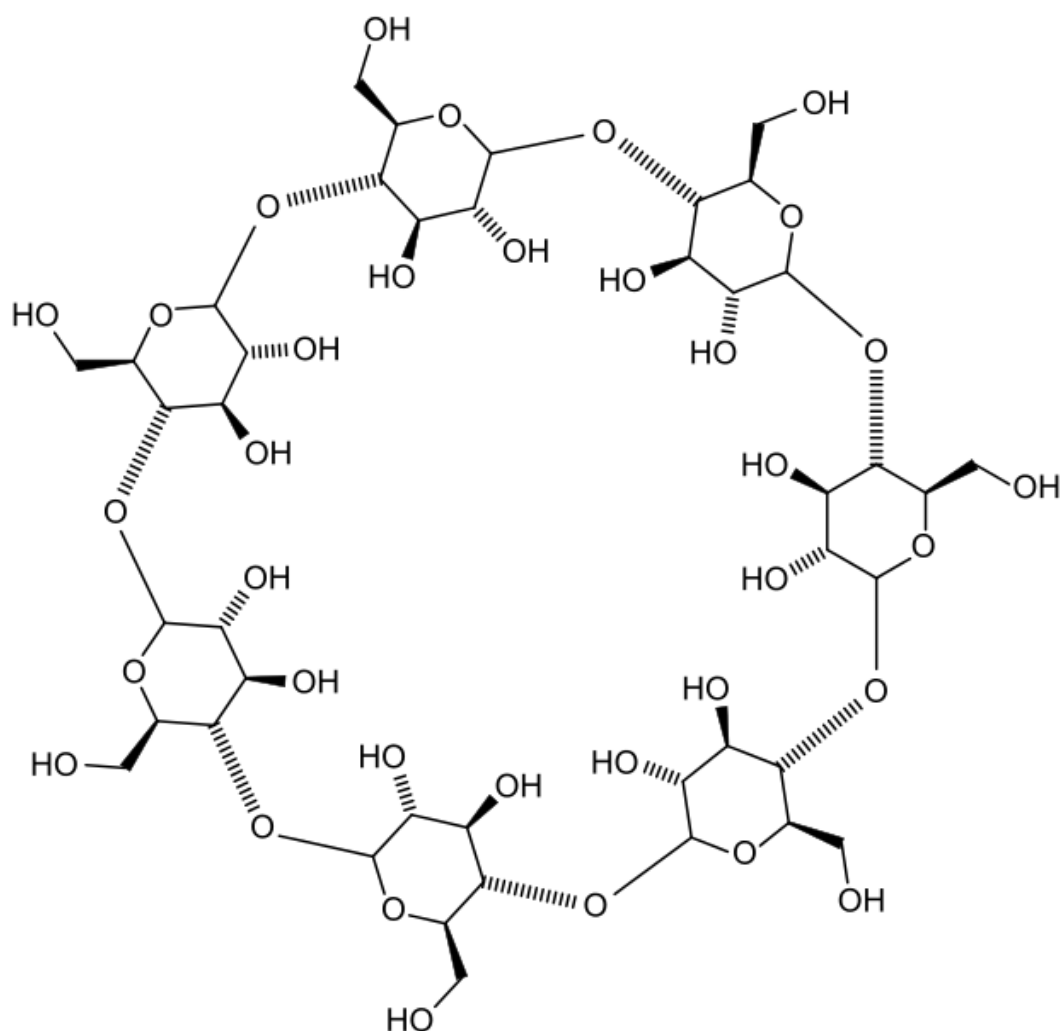
Rozdział 3

Własności fizyko-chemiczne badanych materiałów

W tym rozdziale w zbiorczej formie omówione są struktury i podstawowe własności fizyko-chemiczne tych składników, które występują w badanych układach fizycznych, omawianych w następnych rozdziałach tej rozprawy.

3.1 Cyklodekstryny

Cyklodekstryny to cykliczne oligomery glukozy. Po raz pierwszy związki te zostały otrzymane w roku 1891 przez Villiersa. Cyklodekstryny otrzymuje się najczęściej poprzez enzymatyczną degradację skrobi. W procesie tym uczestniczą enzymy zwane glukotransferazami cyklodekstrynowymi (CGT-azami) oraz inne enzymy z grupy amylaz. Ich działanie polega na katalizie w pierwszej kolejności reakcji rozszczepienia łańcuchów polisacharydowych, a w drugiej kolejności na cyklizacji tychże łańcuchów. W wyniku tego procesu powstaje mieszanina cyklicznych i łańcuchowych oligosacharydów. Do najczęściej spotykanych cyklodekstryn zaliczamy α -, β - i γ -cyklodekstrynę. Są to związki krystaliczne, zbudowane odpowiednio z 6, 7 i 8 reszt glukozy połączonych ze sobą wiązaniem α -1,4-glikozydowym.

RYSUNEK 3.1: Wzór strukturalny cząsteczki β -cyklodekstryny.

Cyklodestryny są łatwo rozpuszczalne w wodzie. Budowa cyklodekstryn determinuje ich właściwości. Hydrofilowość zapewniają I-rzędowe i II-rzędowe grupy hydroksylowe. Ze względu na fakt, że wszystkie jednostki glukopiranozowe w pierścieniu cyklodekstryny występują w konformacji krzesłowej, wszystkie pierwszorzędowe grupy hydroksylowe znajdują się po jednej stronie pierścienia, a drugorzędowe po przeciwnej stronie pierścienia. Cząsteczka przybiera kształt ściętego stożka (toroidu), którego szerszą krawędź wyznaczają drugorzędowe grupy OH, a węższą pierwszorzędowe grupy OH. Atomy tlenu wiązania glikozydowego są skierowane do środka wnęki. Wnętrze pierścienia jest apolarne, hydrofobowe o właściwościach

zbliżonych do centrów aktywnych w enzymach. Dzięki takiej budowie może zachodzić selektywne inkludowanie innych cząsteczek lub jonów w kompleksie typu „gospodarz-gość”.

Drugorzędowe grupy hydroksylowe danej jednostki glukopiranozy cyklodekstryny mogą tworzyć wiązanie wodorowe z grupami hydroksylowymi sąsiednich jednostek glukopiranozy. Stopień wiązania wodorowego pomiędzy drugorzędowymi grupami hydroksylowymi jest różny dla każdej cyklodekstryny. Grupy hydroksylowe sąsiednich jednostek glukozy w β -cyklodekstrynie (rysunek 3.1) są skierowane w taki sposób, że bardzo silnie oddziałują na siebie. W wyniku tego słabo oddziałują z polarnymi cząsteczkami wody. W przypadku pierścienia α -cyklodekstryny, gdzie mimo że naprężenia w pierścieniu są większe niż w β -cyklodekstrynie, grupy hydroksylowe układają się w taki sposób że oddziałują ze sobą znacznie słabiej. Dlatego możliwe jest dużo silniejsze oddziaływanie tych grup z cząsteczkami wody. W rezultacie α -cyklodekstryna jest lepiej rozpuszczalna w wodzie niż β -cyklodekstryna. W cząsteczce γ -cyklodekstryny występuje jeszcze mniejsze oddziaływanie między grupami hydroksylowymi sąsiednich jednostek glukozowych, przez co γ -cyklodekstryna najlepiej rozpuszcza się w wodzie. β -cyklodekstryna jest słabo rozpuszczalna w większości rozpuszczalników organicznych, ale za to rozpuszcza się znacznie lepiej, gdy zastosujemy układ rozpuszczalnik organiczny-woda.

Kompleksy inkluzyjne typu „gospodarz-gość” powstają w wyniku niekowalencyjnych oddziaływań między poszczególnymi cząsteczkami. Za powstawanie trwałych kompleksów odpowiedzialne są siły van der Waalsa, wiązania wodorowe, oddziaływania typu dipol-dipol itp. W większości przypadków proces kompleksowania jest stereospecyficzny, a cyklodekstryny wykazują selektywność substratową. Kompleksy te w bardzo istotny sposób zmieniają właściwości chemiczne i fizyczne inkludowanych cząsteczek (rozpuszczalność, łatwość utleniania) a także mogą chronić je przed różnymi reakcjami chemicznymi. Czynnikiem powodującym stereoselektywne tworzenie się kompleksów jest kształt i wielkość wnęki cyklodekstryny. Głębokość wnęki wynosi 7.8 Å. Szerokość zależy od liczby jednostek glukozowych

tworzących pierścieni. Tylko cząsteczka gościa posiadająca odpowiedni kształt i wielkość może zostać ulokowana we wnęce cyklodekstryny.

Cyklodekstryny kompleksują we wnętrzu pierścienia wiele jonów oraz związków organicznych. Jednym z warunków tworzenia się takich kompleksów jest to, że cząsteczka "gość" musi w całości albo przynajmniej w znacznej części wnikać do wnęki cyklodekstryny. Proces kompleksowania cząsteczek wewnątrz wnęki może zachodzić zarówno w roztworze wodnym, jak i w fazie stałej. Proces tworzenia kompleksu jest procesem dynamicznej równowagi, podczas którego wbudowywana molekula ciągle naprzemiennie asocjuje i dysocjuje z wnęką cyklodekstryny. Zdecydowana większość substancji tworzy połączenia z różnymi cyklodekstrynami w stosunku stechiometrycznym 1:1, choć znane są również przykłady w których stosunek ten wynosi 2:1, 1:2 lub 2:2. Ze względu na rozmiar wnęki α -cyklodekstryna kompleksuje alifatyczne łańcuchy, natomiast szerokość β -cyklodekstryny wahająca się od 7,8 do 5,7 Å jest odpowiednia dla cząsteczek zawierających pierścienie aromatyczne co czyni ją najbardziej odpowiednią wielkością dla hormonów, witamin i innych związków często stosowanych w hodowli tkanek i komórek. Utworzenie kompleksu jest możliwe z całą cząsteczką "gościa" lub tylko z jej fragmentem.

Rozpuszczalność kompleksów cyklodekstryn może dość istotnie różnić się od rozpuszczalności czystych cyklodekstryn. Jest to uzależnione przede wszystkim od rodzaju cząsteczki "gościa". Niektóre związki tworzą nierozpuszczalne kompleksy, a inne tworzą bardzo dobrze rozpuszczające się kompleksy, w wielu przypadkach znacznie lepiej niż w przypadku nieskompleksowanych cyklodekstryn. Niepodstawione cyklodekstryny mają sztywną strukturę ze względu na wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe pomiędzy drugorzędowymi grupami hydroksylowymi sąsiadujących jednostek glukozowych. Modyfikacje chemiczne tych grup w istotny sposób zmieniają właściwości fizyczne wnęki oraz strukturę tworzących się kompleksów inkluzyjnych. Mogą one skutkować zwiększeniem głębokości wnęki, dzięki czemu cząsteczki gościa mogą wnikać głębiej. Odpowiednie pochodne cyklodekstryn wykazują również właściwości selektywnego i specyficznego kompleksowania cząsteczek gości, co wykorzystuje się do rozdzielania racematów.

Cyklodekstryny znalazły wiele zastosowań laboratoryjnych i przemysłowych. Zdolność cyklodekstryn do kompleksowania tak wielu różnorodnych związków skutkuje niezmiernie szerokim zakresem zastosowań połączeń inkluzyjnych w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym oraz kosmetycznym. Służą one do fizykochemicznych modyfikacji wybranych związków, stabilizacji substancji czułych na działanie światła, temperatury, tlenu. Modyfikują również fizykochemiczne właściwości cząsteczek gościa, powodując zwiększenie lub zmniejszenie rozpuszczalności, zmianę barwy, zanik nieprzyjemnego zapachu lub smaku. Stosuje się je w celu zwiększenia lub zmniejszenia aktywności chemicznej danej molekuly oraz do jej ochrony przed degradacją w procesach fotolizy i hydrolizy.

W przemyśle farmaceutycznym wykorzystywane są przede wszystkim predyspozycje cyklodekstryn do transportowania lipofilowych cząsteczek przez błonę komórkową. Cyklodekstryny dostarczają rozpuszczalne w tłuszczach molekuly do powierzchni błony, gdzie substancja łatwo penetruje przez jej powierzchnię. Podczas działania cyklodekstryn, jako nośników, nie zostaje zaburzona struktura bariery biologicznej. Dodatkowym atutem cyklodekstryn, wykorzystywanym w farmacji, jest możliwość zwiększenia poprzez kompleksowanie rozpuszczalności substancji trudno rozpuszczalnych. Daje to korzystniejszy efekt farmakologiczny, ponieważ poprawiając biodostępność umożliwia obniżenie dawki.

Niedługo po tym, jak cyklodekstryny zostały odkryte, poznano ich właściwości katalityczne. Na skutek tworzenia kompleksu inkluzyjnego cząsteczka gościa zostaje odizolowana od środowiska zewnętrznego. Cyklodekstryny wykazują specyficzność substratową, a katalizowane przez nie procesy mają charakter stereospecyficzny. Dzięki temu powstaje tylko jeden z możliwych produktów reakcji i dlatego możliwe jest ich zastosowanie do przyspieszania wielu reakcji oraz kontrolowania ich przebiegu. Drugorzędowe grupy hydroksylowe w cyklodekstrynie spełniają rolę centrum aktywnego podobnego do tego jaki występuje w enzymach. Mechanizm katalizy jest spowodowany stereochemią procesu wnikania cząsteczki substratu i utworzeniu kompleksu „gospodarz-gość”. Kataliza jest rezultatem efektu „mikrorozpuszczalnika” heterogenicznej luki cyklodekstryny.

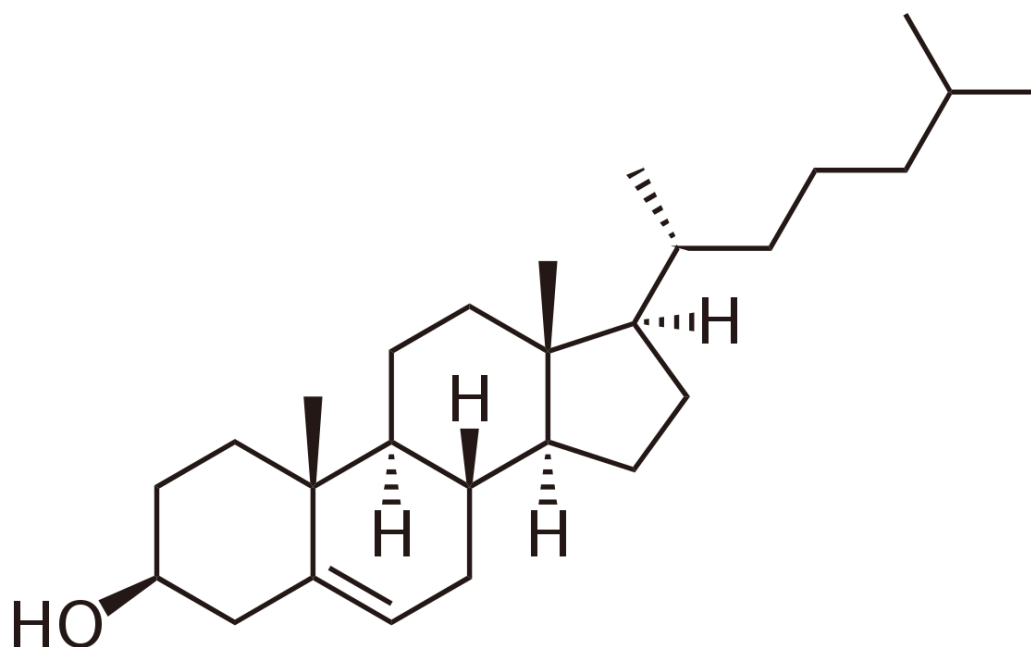
Ponieważ cyklodekstryny są cząsteczkami optycznie czynnymi służą one również do rozdzielania związków chiralnych. Dzięki temu że posiadają one selektywne zdolności inkluzji niektórych innych cząsteczek, wykorzystuje się je do chromatograficznego jak również i elektroforetycznego rozdzielania enancjomerów. W chromatografii kolumnowej HPLC wykorzystywany jest żel krzemionkowy modyfikowany cyklodekstrynami, a w chromatografii gazowej cyklodekstryny stanowią fazy stacjonarne kolumn kapilarnych.

3.2 Cholesterol

Cholesterol jest lipidem z grupy steroidów zaliczanym także do alkoholi. Jak w przypadku innych steroidów, cząsteczka cholesterolu posiada trzy pierścienie sześciowęglowe (cykloheksanowe, jeden z nich zawiera wiązanie podwójne) i czwarty pięciowęglowy (cyklopentanowy) (rysunek 3.2). Cząsteczka cholesterolu ma charakter amfipatyczny. Hydrofobowy szkielet węglowy dominuje nad hydrofilową grupą -OH posiadającą niewielki momentem dipolowym. Pochodne cholesterolu występują w błonie każdej komórki zwierzęcej, działając na nią stabilizująco i decydując o wielu jej własnościach [33, 34]. Jest on także prekursorem licznych ważnych związków, takich jak kwasy żółciowe czy hormony steroidowe (kortyzol, aldosteron, progesteron, estrogeny, testosteron) [34–37]. Stanowi on szkielet strukturalny do biosyntezy wszystkich steroidów. W mielinie komórek nerwowych okrywa on i izoluje nerwy, wspomagając przepływ impulsów nerwowych. Cholesterol krąży również w krwiobiegu jako składnik lipoprotein i można go znaleźć w płynie limfatycznym ludzkiego ciała. Istnieje duża literatura na temat roli cholesterolu w biosystemach [34–37]. Chociaż cholesterol jest niezbędny do funkcjonowania organizmu, jego nadmiar może być szkodliwy dla organizmu. Zaburzenia gospodarki lipidowej, których miarą jest wzrost stężenia cholesterolu w surowicy krwi, są istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia miażdżycy i chorób układu sercowo-naczyniowego.

Miażdżycza jest przewlekłą chorobą metaboliczną naczyń krwionośnych o złożonej patogenezie. Proces miażdżycowy prowadzi do postępującego zwężania a ostatecznie do zamknięcia światła naczynia spowodowanego powstającymi w jego ścianie złoгами – blaszkami miażdżycowymi czego konsekwencją może być choroba niedokrwienna serca, zawał mięśnia sercowego, udar mózgu czy miażdżycza zarostowa kończyn dolnych. W zależności od umiejscowienia i stopnia rozwoju miażdżycy, złoگی mogą mieć różny skład i przyjmować formę zwapnioną lub miękką. Najbardziej niebezpieczne jest pęknięcie zmiany miażdżycowej. Zakrzepy powstające podczas tego procesu mogą gwałtownie odciąć dopływ krwi do różnych narządów. W patogenezie miażdżycy istotną rolę odgrywają zaburzenia metabolizmu lipidów i lipoprotein. Do podstawowych procesów biorących udział w powstawaniu uszkodzenia miażdżycowego zalicza się gromadzenie cholesterolu w ścianie naczyń krwionośnych. Pochodzi on głównie z lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL). Lipoproteiny LDL, odpowiedzialne są za transport cholesterolu i innych trójglicerydów z wątroby do wszystkich pozostałych komórek organizmu. W szczególnych warunkach dochodzi do ich akumulacji w ścianie naczynia krwionośnego, która może zainicjować procesy miażdżycowe. Jej podwyższone stężenie w osoczu sprzyja ich modyfikacjom, głównie utlenieniu i agregacji. Zmodyfikowane lipoproteiny są wychwytywane przez makrofagi obecne w ścianie naczyń, czego efektem jest powstawanie wypełnionych cholesterolu komórek piankowatych. Komórki te produkują czynniki wzrostowe, cytokiny i proteazy, co przyspiesza powstawanie i progresję blaszki miażdżycowej. Komórki piankowate ostatecznie obumierają, a zmagazynowany cholesterol zostaje uwolniony do środowiska, uczestnicząc w tworzeniu rdzenia blaszki miażdżycowej.

Mimo ciągłych postępów w zapobieganiu i leczeniu miażdżycy tętnic, choroby sercowo-naczyniowe nadal są główną przyczyną zgonów na całym świecie [38–40]. Dlatego też poszukiwanie nowych metod usuwania złogów cholesterolowych [41–44] we wczesnej fazie choroby miażdżycowej, jest istotnym zagadnieniem medycyny molekularnej.



RYSUNEK 3.2: Wzór strukturalny cząsteczki cholesterolu.

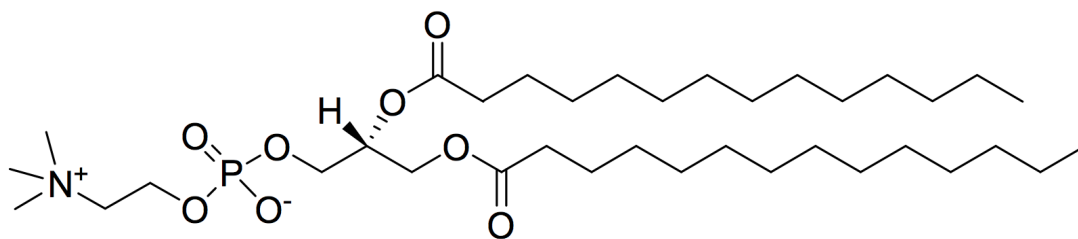
3.3 Grafen

Grafen to jedna z alotropowych form węgla będąca płaską strukturą złożoną z atomów węgla, połączonych w sześciokąty. Grafen jest materiałem elastycznym i bardzo wytrzymałym na rozciąganie. Odpowiadają za to wiązania kowalencyjne występujące między tworzącymi go atomami węgla. Grafen jest przedmiotem zainteresowania ze względu na swoje unikatowe właściwości [45–48], w tym elektryczne i mechaniczne. W ostatnich latach rośnie ilość badań dotyczących jego potencjalnych zastosowań biomedycznych [49]. Niestety grafen ma słabą rozpuszczalność w wodzie która jest głównym składnikiem układów biologicznych. Stąd zdolność do wytwarzania wodnego roztworu lub wodnej zawiesiny substancji dostarczanych do próbki biologicznej jest często bardzo pożądana [50]. Ponieważ grafen jest substancją hydrofobową to jego pojedyncze arkusze w środowisku wodnym mają tendencję do zlepiania się w większe aglomeraty i wytrącania ze środowiska wodnego. Inną kwestią ograniczającą wykorzystanie czystego grafenu jako podstawy dla przyszłych urządzeń nanomedycznych lub systemów dostarczania leków

jest jego cytotoksyczności [51–54]. Dlatego, aby móc zastosować grafen w biosystemach należy rozważyć jego dekorację dodatkowymi cząsteczkami, zwiększającymi jego rozpuszczalność w wodzie i biokompatybilność.

3.4 Lipidy

Lipidy są jednymi z najbardziej rozpowszechnionych rodzajów biomolekuł i występują w prawie każdej żywej komórce. Są głównym budulcem biomembran, uczestniczą w magazynowaniu energii i przekazywaniu sygnałów nerwowych. Część cząsteczek fosfolipidów są niezbędnym składnikiem błony komórek biologicznych. Ich właściwości amfifilowe, tj. zarówno hydrofilowe, jak i lipofilowe, prowadzą do powstania dwuwarstwy lipidowej – charakterystycznego elementu biomembrany. Część cząsteczka fosfolipidowa składa się z hydrofilowej „głowy” (grupa fosforanowa) i dwóch hydrofobowych kwasów tłuszczowych zwanych „ogonami” fosfolipidu. Część cząsteczka glicerolu łączy ze sobą te dwa elementy składowe, hydrofilową „głowę” i hydrofobowe „ogony”. Na rysunku 3.3 pokazano przykładową cząsteczkę fosfolipidu.



RYSUNEK 3.3: Wzór strukturalny cząsteczki 1,2-dimirystoil-sn-glikero-3-fosfocholiny (DMPC).

3.5 Surfactanty

Surfaktantem nazywamy substancję, która gromadząc się na powierzchni rozdziału faz zmienia w znacznym stopniu, nawet przy niskich stężeniach, właściwości powierzchniowe cieczy, w której jest rozpuszczona. Substancje te mają cząsteczki

o budowie asymetrycznej, składające się z dwóch części o skrajnie różnych właściwościach: niepolarnej lub słabo polarnej oraz silnie polarnej.

Cząsteczkę surfaktantu przyjęto przedstawiać w uproszczony sposób jako kółko oznaczające grupę polarną oraz odcinek krzywej obrazujący grupę hydrofobową. Część niepolarna (hydrofobowa) jest nierozpuszczalna w wodzie i w cieczach silnie polarnych, natomiast łatwo rozpuszczalna w olejach i w cieczach niepolarnych. Część polarna, przeciwnie, jest hydrofilowa, a więc lipofobowa. Na skutek różnego zachowania się w stosunku do różnych faz, tego rodzaju cząsteczki nazywa się także amfifilowymi.

Cząsteczki te wykazują specyficzne zachowanie się polegające na tworzeniu struktur o rozmiarach koloidalnych [55–57]. Struktury te powstają bądź na granicy międzyfazowej bądź w fazie objętościowej roztworu surfaktantu, gdzie następuje ich porządkowanie się (agregacja). Geometria agregatów utworzonych przez cząsteczki amfifilowe jest wynikiem równowagi pomiędzy dwiema przeciwnymi siłami. Oddziaływanie hydrofobowe przyczynia się do agregacji cząsteczek środka powierzchniowo czynnego, natomiast odpychanie elektrostatyczne między polarnymi, hydrofilowymi częściami determinuje minimalny rozmiar, jaki może osiągnąć agregat. W bardzo rozcieńczonych roztworach cząsteczki surfaktantów występują jako pojedyncze cząstki. Jednakże po przekroczeniu pewnego stężenia cząsteczki te samorzutnie asocjują tworząc agregaty o rozmiarach koloidalnych zwane micelami. Ze względu na wielkość agregatów, micelle zajmują pozycję pomiędzy zawiesinami a roztworami właściwymi. Stężenie, przy którym rozpoczyna się proces micelizacji nazywamy krytycznym stężeniem micelizacji (CMC). Wnętrze miceli tworzy rdzeń hydrofobowy, natomiast zewnętrzną sferę stanowią polarne, hydrofilowe grupy jonowe, które są hydratowane przez cząsteczki wody. W celu wyznaczenia CMC stosuje się różne techniki eksperymentalne, między innymi pomiar napięcia powierzchniowego, rozpraszanie światła, magnetyczny rezonans jądrowy czy też pomiary fluorescencyjne. Wiadomo bowiem, że własności fizyczne (np. napięcie powierzchniowe, rozpuszczalność, lepkość) układu w punkcie CMC ulegają znaczącej zmianie. Ostatnio symulacje dynamiki molekularnej (MD) stały się skuteczną metodą badania różnych miceli [58–68].

3.6 Micele

Micele są układami koloidalnymi, przezroczystymi (wielkość agregatu jest mniejsza od długości światła widzialnego), w których fazą ciągłą jest woda lub rozpuszczalnik, a fazą rozproszoną są cząsteczki surfaktantu. Ze względu na wielkość agregatów, micele zajmują pozycję pomiędzy zawiesinami a roztworami właściwymi, przy czym ta granica nie jest ściśle zdefiniowana.

Wnętrze miceli tworzy rdzeń hydrofobowy, natomiast zewnętrzną sferę stanowią polarne, hydrofilowe grupy jonowe, które są hydratowane przez cząsteczki wody. Stabilność i struktura miceli wynika z obecności ładunku na powierzchni. Należy tutaj jednak zaznaczyć, że cały agregat jest elektrycznie obojętny. Ładunek powoduje, że na powierzchni gromadzą się przeciwjony (jony o przeciwnym znaku niż ten, który posiadają cząsteczki koloidu), które stanowią warstwę Helmholtza-Sterna. Grupy hydrofilowe oraz przeciwjony są stabilizowane siłami van der Waalsa. Poniżej znajduje się znacznie grubsza, dyfuzyjna warstwa Gouya-Chapmana. Badania struktury micel są prowadzone przy użyciu różnorodnych technik laboratoryjnych. Do najważniejszych klasycznych metod należy zaliczyć: pomiar lepkości, napięcia międzyfazowego lub przewodności. Nowoczesne metody pomiaru struktury micel są reprezentowane przez następujące techniki: statyczne lub dynamiczne rozpraszanie światła, relaksacja dielektryczna, niskokątowe rozpraszanie neutronowe, niskokątowe rozpraszanie rentgenowskie, szybkie fluorescencyjne lub fosforescencyjne wygaszanie.

Solubilizacja oznacza zdolność do wchłaniania cząsteczek trudno rozpuszczalnych związków chemicznych (solubilizat) przez agregaty micelarne. W wyniku solubilizacji obserwuje się wzrost rozpuszczalności związków trudno rozpuszczalnych w danym środowisku, w obecności związków amfifilowych. W roztworach wodnych zawierających micele, rozpuszczalność trudno rozpuszczalnych węglowodorów jest znacznie większa niż w czystym roztworze wodnym.

Podobnie w roztworach organicznych, obecność odwróconych micel powoduje wzrost

rozpuszczalności substancji polarnych takich jak: aminokwasy lub białka. Utworzone w ten sposób roztwory są izotropowe oraz trwałe termodynamicznie. Istnieje jednak w procesie solubilizacji granica nasycenia, która jest zależna od właściwości fizykochemicznych rozpuszczanego związku oraz surfaktantu.

W obecności silnie oddziałujących przeciwjonów w roztworze lub par jonowych surfaktantów (mieszanina kationowych i anionowych surfaktantów) micela może przybrać kształt cylindryczny. Takie wydłużone struktury może tworzyć m.in. siarczan dodecylu sodu (SDS). Wzrost stężenia jonowego surfaktantu w roztworach wodnych może prowadzić do zmiany morfologii miceli w kierunku struktur o wyższym uporządkowaniu. Zjawisko to jest wynikiem spadku średniej odległości pomiędzy agregatami i tym samym wzrostem siły międzycząsteczkowego odpychania.

Z punktu widzenia układów biologicznych ważną rolę odgrywają agregaty o strukturze lamelarnej lub pęcherzykowej. Przykładem naturalnie występujących struktur lamelarnych są błony cytoplazmatyczne, których podstawowym składnikiem strukturalnym są fosfolipidy. Zamknięcie struktur lamelarnych prowadzi do powstania układów sferycznych nazywanych pęcherzykami. Do struktur samoistnie powstających z fosfolipidów tego typu należą lipoproteiny, będące naturalnymi liposomami o średnicy 20-100nm.

3.7 Błona komórkowa

Komórka jest najmniejszą, funkcjonalną jednostką żywych organizmów, zdolną do przeprowadzania podstawowych procesów życiowych. Jest chroniona przez błonę komórkową, która oddziela komórkę od otoczenia oraz ogranicza znajdujące się w jej wnętrzu organelle. Ogrywa ona znaczącą rolę w wielu procesach decydujących o funkcjonowaniu organizmu żywego. Oprócz funkcji bariery selektywnie przepuszczającej określone substancje, błony odgrywają też ważną rolę w przenoszeniu sygnałów między komórkami. Zawierają, bowiem receptory reagujące na sygnały zewnętrzne. Błona komórkowa jest złożonym układem molekularnym pod

względem struktury, jak również właściwości mechanicznych i termofizycznych. Podstawowymi składnikami błon biologicznych są lipidy i białka. Fosfolipidy to klasa lipidów, które są głównym składnikiem wszystkich błon komórkowych. Częsteczka fosfolipidowa składa się z dwóch „ogonów” hydrofobowego kwasu tłuszczowego i hydrofilowej „głowy” składającej się z reszty kwasu fosforowego związanego z zasadą azotową. Oba składniki są połączone razem cząsteczką glicerolu. Fosfolipidy mogą tworzyć dwuwarstwy ze względu na ich amfifilowe własności. Dwuwarstwy fosfolipidowe powstają, gdy ogony hydrofobowe ustawiają się naprzeciw siebie, tworząc membranę hydrofilowych głów po obu stronach skierowanych w stronę środowiska wodnego. Warstwa ta zapewnia komórce integralność. Jest ona również miejscem lokowania się białek.

Powierzchnia błon biologicznych, z uwagi na obecność cząstek obdarzonych ładunkiem elektrycznym jest silnie zjonizowana. Dlatego też możliwa jest na niej adsorpcja wielu różnych substancji obecnych w środowisku zewnętrznym. Szczególne znaczenie, z punktu widzenia funkcjonowania komórki, ma adsorpcja jonów elektrolitu. Powstające na granicy faz błona/roztwór równowagi adsorpcyjne nie tylko wpływają na właściwości fizykochemiczne i elektryczne błon, ale także są istotne dla przebiegu wielu procesów związanych z błoną.

Błony biologiczne u eukariontów zawierają także inną klasę lipidów, steroli, rozproszonych między fosfolipidami i razem zapewniają płynność błony oraz jej wytrzymałość mechaniczną. Cholesterol jest steroidem ze względu na jego strukturę molekularną złożoną ze steroidu i alkoholu. Cholesterol jest obecny we wszystkich błonach komórkowych ssaków w ilościach wahających się od około 20% do około 50%. Dotychczasowe badania eksperymentalne i obliczeniowe wykazały, że cholesterol jest jedną z najważniejszych cząsteczek lipidów w biomembranach, ze względu na jego zdolność do modulowania ich własności fizycznych [33, 34]. Wiadomo że płynność błony komórkowej jest regulowana przez stężenie cholesterolu. Usztywnienie dwuwarstwy jest wynikiem pojawienia się cholesterolu w szczelinach między fosfolipidami. Zwiększona płynność podwójnej warstwy, jest konsekwencją wyginania grup węglowodorowych cząsteczek fosfolipidów, która zachodzi wtedy,

gdy cholesterol występuje w bardzo niskich stężeniach. Wraz ze zmianą płynności dwuwarstwy zmienia się również jej przepuszczalność. Od składu lipidowego błon zależy również aktywność białek błonowych. W konsekwencji cholesterol jest niezbędny do żywotności komórek, a jego kluczową funkcją jest utrzymanie odpowiedniej struktury błony komórkowej.

Rozdział 4

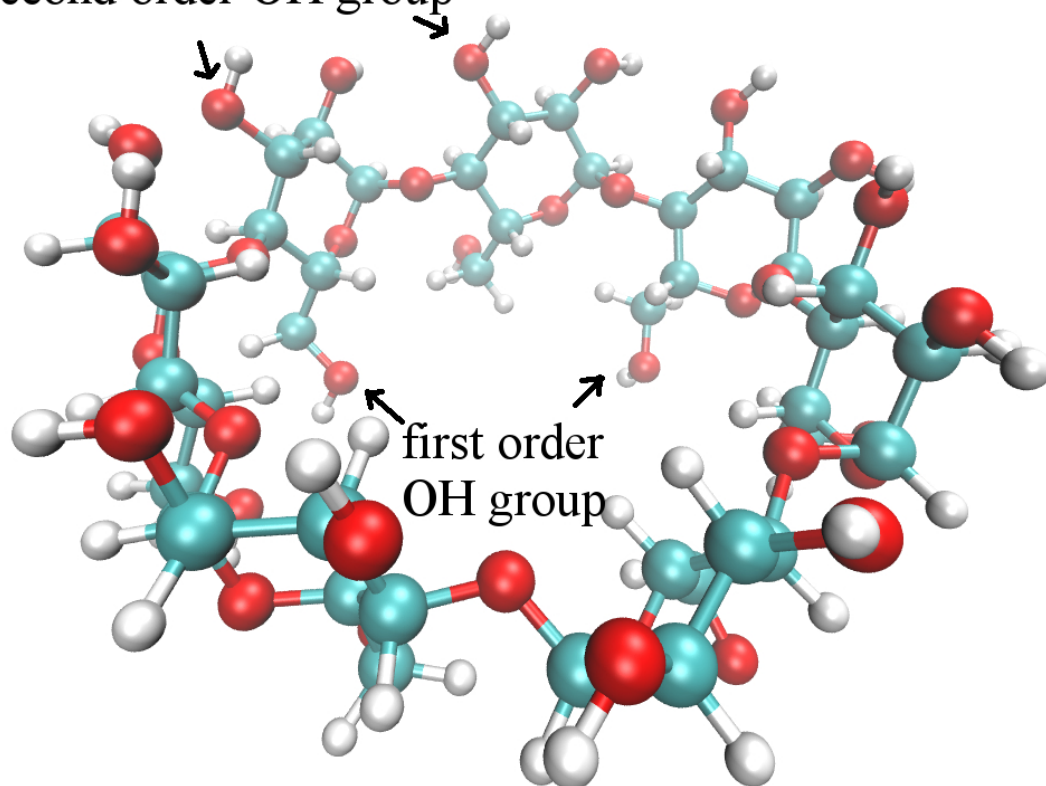
Wpływ β -cyklodekstryny na złóg cholesterolowy

Poszukiwanie nowych metod usuwania złogów cholesterolowych [41–44] we wczesnej fazie choroby miażdżycowej, jest istotnym zagadnieniem medycyny molekularnej i prezentowane w bieżącym rozdziale badania są związane z tym zagadnieniem. Celem tej części pracy było poznanie wpływu β -cyklodekstryny na złóg cholesterolowy zalegający na wewnętrznej powierzchni naczyń krwionośnych. Badania były prowadzone metodą dynamiki molekularnej (MD) w warunkach zbliżonych do fizjologicznych. β -cyklodekstryna i jej pochodne są uważane za jedne z najbardziej obiecujących kandydatów na leki przeciwmiażdżycowe nowej generacji. Symulacje komputerowe umożliwią bezpośrednie zbadanie wzajemnego oddziaływania β -cyklodekstryny i cholesterolu na poziomie molekularnym. Mają one dać odpowiedź na pytanie, czy wymienione cząsteczki są w stanie odciągnąć molekuły cholesterolu tworzące złóg, doprowadzając do jego redukcji. Wykonane symulacje mogą stanowić dobry punkt wyjścia dla poszukiwania nowych metod leczenia arteriosklerozy, poprzez działania w nanoskali, na poziomie molekularnym. Przedstawione tutaj wyniki zostały w znacznej części opublikowane, zob. “Investigation of the influence of β -cyclodextrin on cholesterol lodgement – A molecular dynamics simulation study”, D. Makieła, I. Janus-Zygmunt, K. Górny, Z. Gburski, *Journal of Molecular Liquids* 262 (2018) 451–459.

W ramach badań wykonano numeryczne symulacje zdolności β -cyklodekstryny [69] do tworzenia kompleksów inkluzyjnych z cholesterolem [70–72]. Dzięki hydrofobowemu wnętrzu cząsteczki β -cyklodekstryny mogą tworzyć kompleksy inkluzyjne ze związkami hydrofobowymi, zwiększając ich rozpuszczalność w środowisku wodnym. Do przeprowadzenia symulacji metodą dynamiki molekularnej wykorzystano program NAMD [73, 74] oraz Visual Molecular Dynamics (VMD) [32, 75], który pozwala na wizualizację wyników i przygotowanie układu do symulacji. Współrzędne atomów badanych molekuł zostały importowane z pliku PDB, a struktura cząsteczkowa układu z pliku PSF. Do opisu oddziaływań międzycząsteczkowych użyto potencjału CHARMM [76].

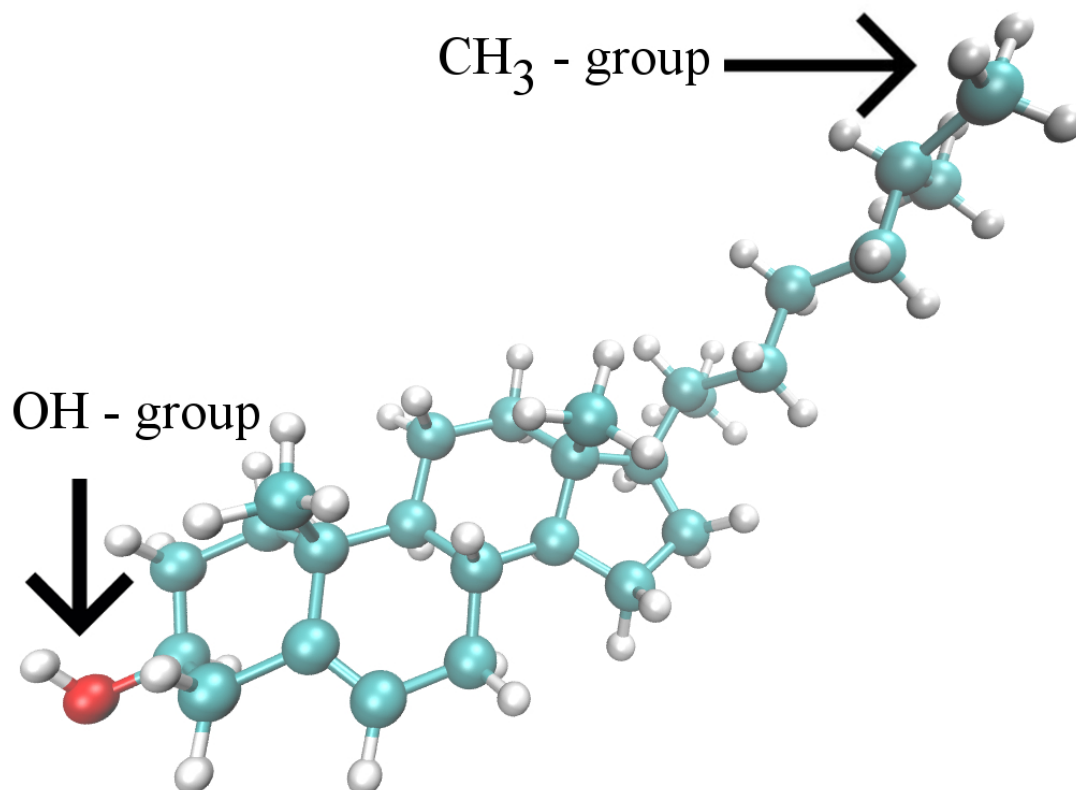
Struktury molekuł β CD [70–72] i cholesterolu [69] są przedstawione na rysunku 4.1 i 4.2.

second order OH group



RYSUNEK 4.1: Struktura molekuły β -cyklodekstryny – wizualizacja VMD.

Pierwsze zbadane układy to klastry złożone z 9 cząsteczek β CD i $n = 9, 18, 45$ cząsteczek cholesterolu bez okresowych warunków brzegowych. Badane układy



RYSUNEK 4.2: Struktura molekuły cholesterolu – wizualizacja VMD.

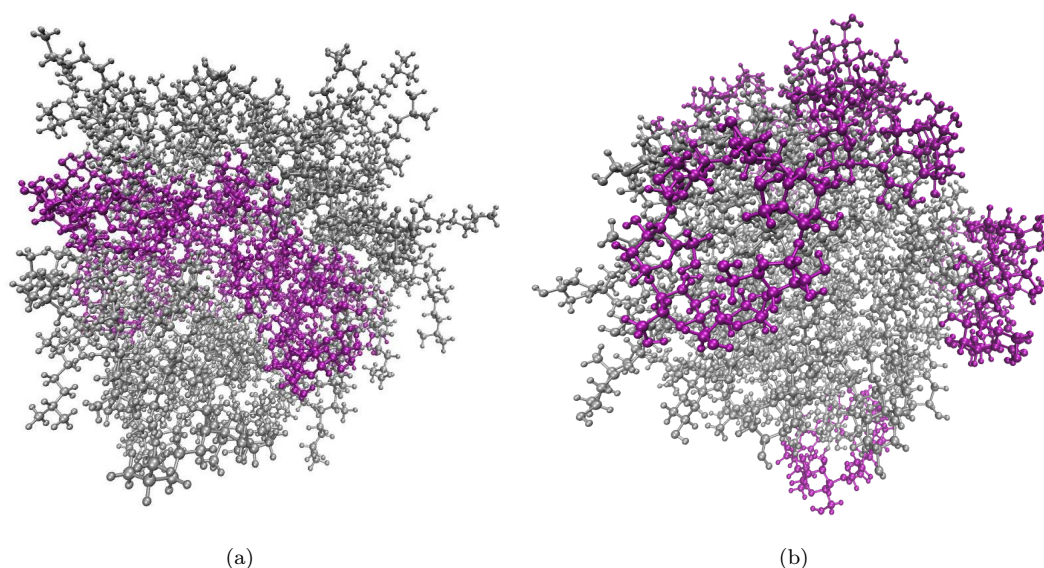
były termostatowane za pomocą termostatu Langevina o współczynniku tłumienia 1ps^{-1} . Odległość odcięcia dla wszystkich oddziaływań niewiążących wynosiła 10Å . Te same układy zostały również zbadane w środowisku wodnym z zastosowaniem periodycznych warunków brzegowych. Pozwalają one na symulowanie niewielkich układów cząstek w taki sposób, aby ich zachowanie było jak najbardziej zbliżone do rzeczywistości, jednocześnie unikając żmudnych obliczeń wielkich układów cząstek w skończonej objętości. Początkowe rozmiary komórki symulacyjnej wynosiły $100 \times 100 \times 100\text{Å}$. Liczba cząsteczek wody zawartych w komórce symulacyjnej wynosiła 31063, 30693 i 29568 molekuł odpowiednio dla stosunku $\beta\text{CD}:\text{cholesterol}$ 1:1, 1:2 i 1:5. W tych symulacjach ciśnienie 1 atmosfery kontrolowano przy pomocy barostatu Langevina z okresem 100 fs i stałą czasową tłumienia 50 fs. Długozasięgowe siły elektrostatyczne zostały uwzględnione za pomocą metody Particle Mesh Ewald [22].

Symulacje omówione w pracy zostały przeprowadzone w zespole NPT (stała liczba cząstek, stałe ciśnienie i temperatura) dla układów w środowisku wodnych i NT dla układów w środowisku bezwodnym. Były one równoważone przez $1 \cdot 10^7$ kroków czasowych. Krok czasowy dla każdej symulacji wynosił $\Delta t = 1 fs$. Do całkowania równań ruchu został wykorzystany standardowy algorytm (algorytm Brünger–Brooks–Karplus) zaimplementowany w NAMD [77]. Następnie, celem wyznaczenia wielkości makroskopowych charakteryzujących układ zbierano dane dotyczące trajektorii co 2000 kroków symulacji (2 ps) odpowiednio przez 20 ns dla klastrów i 50 ns dla symulacji z wodą. Układy symulowane były w temperaturach: 280, 290, 300, 310, 320, 330 K.

W symulacjach wykorzystano model wody TIP3P CHARMM [78]. Należy zauważyć, że zastosowany model wody nie odtwarza bardzo ściśle dyfuzji translacyjnej wody, niemniej jednak całe pole sił CHARMM zostało dopasowane do opisu interakcji związków biologicznych z tym konkretnym modelem. Wszystkie cząsteczki użyte tych badaniach były modelowane na poziomie atomistycznym.

Początkowa konfiguracja układu powstała poprzez umieszczenie dziewięciu cząsteczek β -cyklodekstryny pomiędzy dwiema warstwami cząsteczek cholesterolu. Przykładową uzyskaną konfigurację równowagową w środowisku bezwodnym w $T = 320$ K pokazano na rysunku 4.3a. W układzie bezwodnym nie obserwuje się mieszania cząsteczek β -cyklodekstryny i cholesterolu. Ta sama konfiguracja w środowisku wodnym jest przedstawiona na rysunku 4.3b. W układzie wodnym równowagowa konfiguracja jest zasadniczo inna niż w przypadku bezwodnym. Cząsteczki cholesterolu mają tendencję do łączenia się tworząc jednorodny klaster, natomiast cząsteczki β -cyklodekstryny przyklejają się do jego powierzchni. Oznacza to, że w środowisku wodnym interakcje cholesterol-cholesterol przewyższają oddziaływania β CD-cholesterol. Oddziaływanie cząsteczek β CD z cholesterolem są zbyt słabe, aby wyciągnąć cząsteczki cholesterolu z utworzonego klastra.

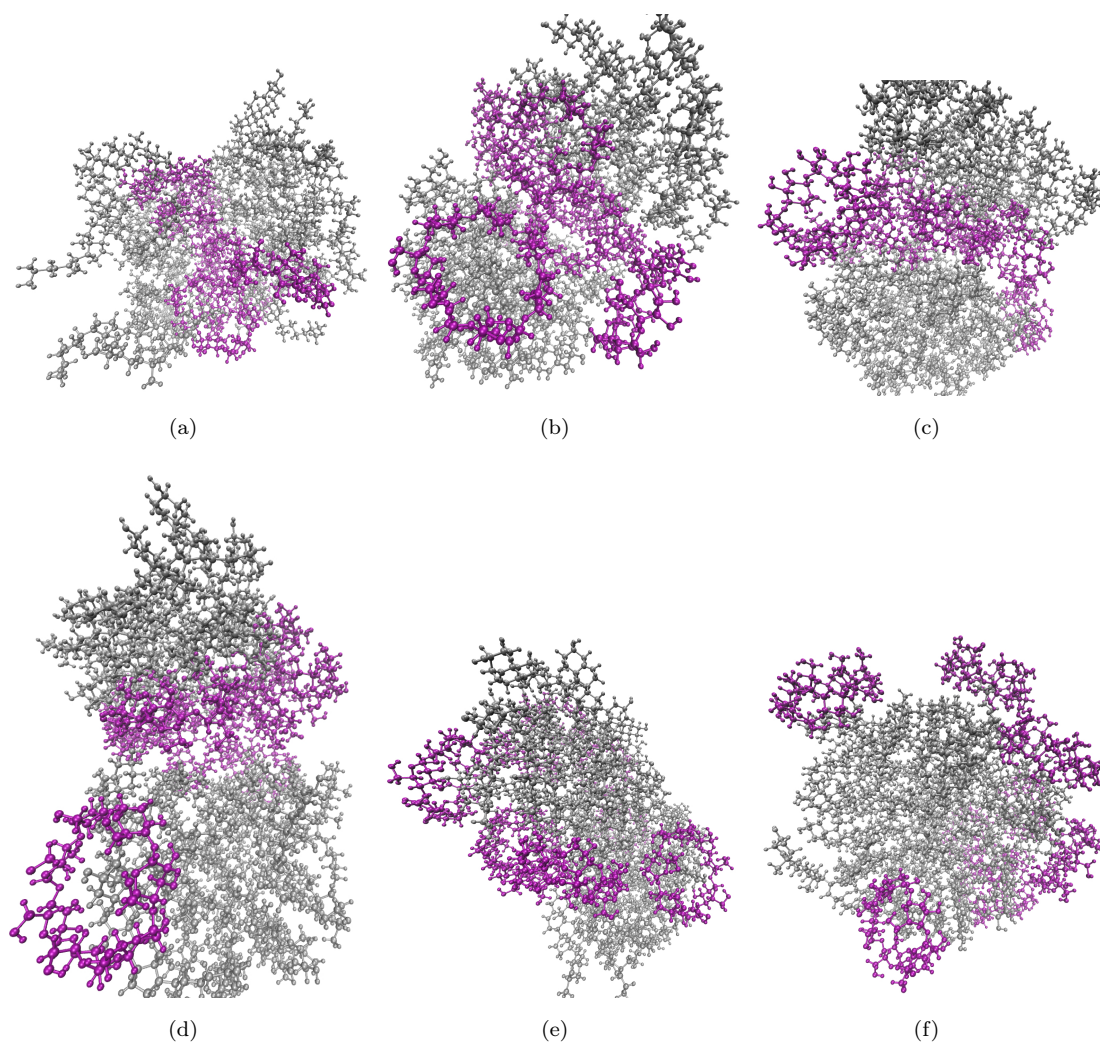
Wpływ wody jest znaczny dla badanych układów. Na kolejnym rysunku (rysunek 4.4) przedstawiono sekwencję konfiguracji obrazujących proces transformacji



RYSUNEK 4.3: Konfiguracja równowagowa β CD-cholesterol dla a) środowiska bezwodnego i b) środowiska wodnego w $T = 320$ K. Czasteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.

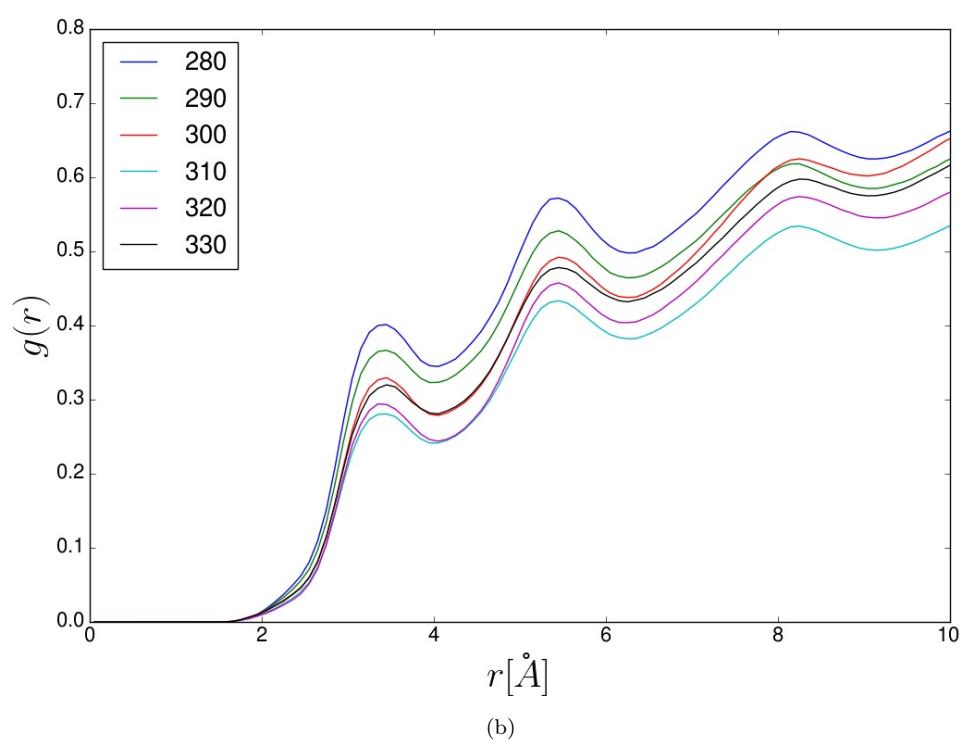
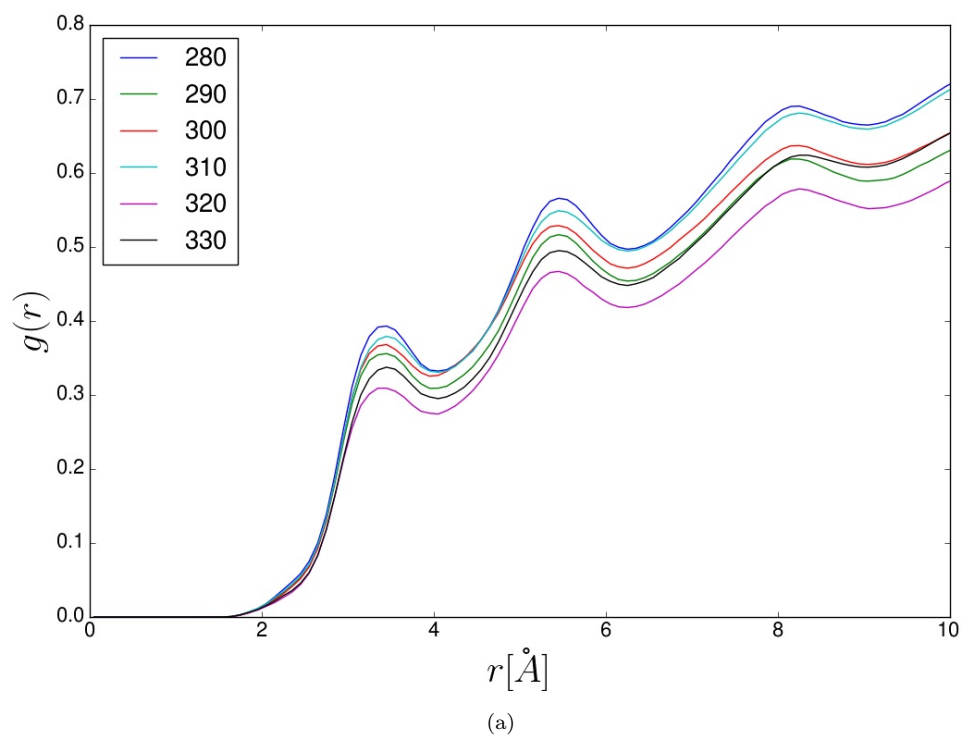
początkowej struktury kanapkowej w końcową, tj. klastra cholesterolowego otoczonego przez czasteczki β CD. Jedną z istotnych charakterystyk układów w fazie ciekłej jest funkcja radialnego rozkładu. Funkcja radialnego rozkładu (RDF) określa prawdopodobieństwo znalezienia atomu w odległości z przedziału $(r, r+dr)$ od dowolnego atomu odniesienia. Obliczoną funkcję radialnego rozkładu pomiędzy atomem wodoru z drugorzędowej grupy -OH β -cyklodekstryny (patrz rysunek 4.1) a atomem tlenu z wody pokazano na rysunku 4.5. Są to grupy -OH które są bezpośrednio w najlepszym kontakcie z wodą z powodu orientacji β CD i to te grupy w dużej mierze odpowiadają za tworzenie wiązań wodorowych pomiędzy β CD a wodą i stabilizują całą tą strukturę. Widać trzy wyraźnie zaznaczonych sfery koordynacyjne z ich maksimami wynoszącymi około 3.5, 5.5, 8.25 Å.

Lokalizacje maksimów $g(r)$ zależą tylko bardzo nieznacznie od stosunku β CD:cholesterol. Maksima są wyraźnie wrażliwe na zmiany temperatury. Im niższa temperatura, tym wyższe i ostrzejsze jest każde maksimum funkcji $g(r)$. Oznacza to, że wraz ze wzrostem temperatury sfery koordynacyjne stają się bardziej rozmyte co jest konsekwencją stopniowego przejścia od dobrze określonej struktury w niskiej temperaturze do fazy miękkiej w wyższej temperaturze.

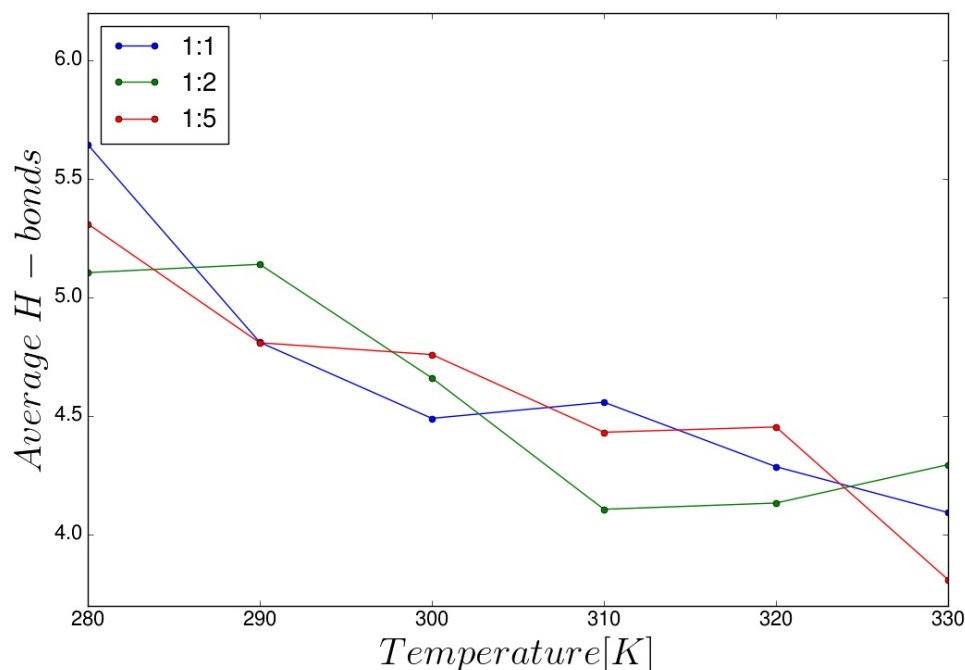


RYSUNEK 4.4: Sekwencja wizualizacji obrazujących proces transformacji początkowej struktury kanapkowej w końcową, tj. klastra cholesterolowego otoczonego przez cząsteczki β CD w środowisku wodnym w $T = 320$ K. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.

Inną wyznaczoną wielkością jest ilość wiązań wodorowych. Na rysunku 4.6 pokazano średnią liczbę wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol w środowisku wodnym. Wiązania wodorowe są liczone pomiędzy cząsteczkami β CD i wody. Średnia liczba wiązań wodorowych β CD- H_2O maleje wraz ze wzrostem temperatury, natomiast wpływ stosunku β CD:cholesterol jest marginalny. Na rysunku 4.7 widnieje średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol w środowisku bezwodnym. W przeciwieństwie do poprzedniego przypadku, średnia liczba wiązań wodorowych zasadniczo zależy od



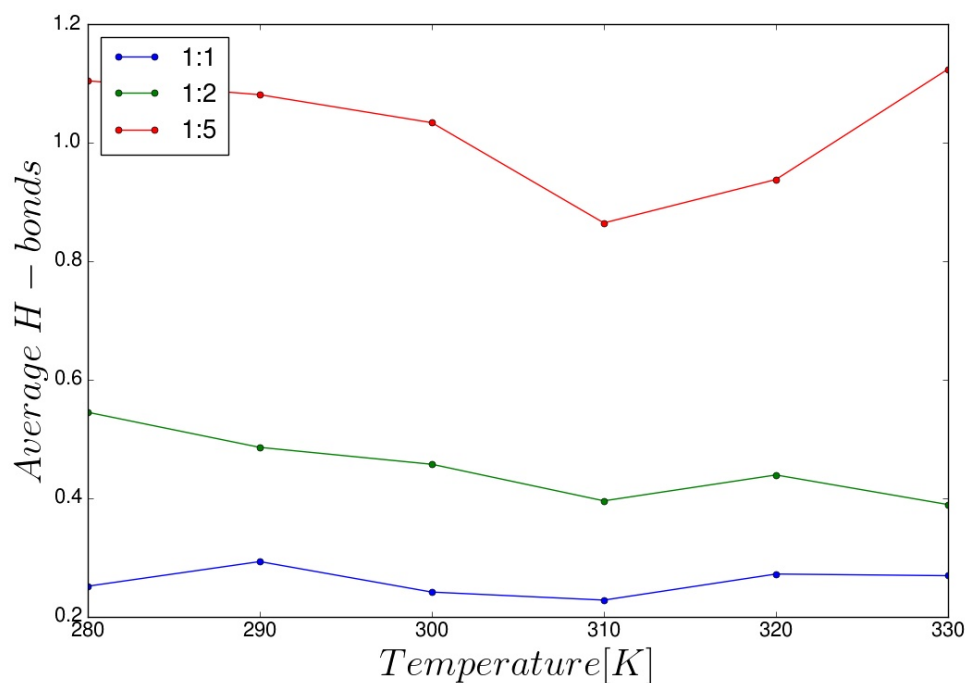
RYСУNEK 4.5: Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy atomem wodoru z drugorzędowej grupy -OH β -cyklodekstryny a atomem tlenu z wody, dla stosunku β CD:cholesterol a) 1:1, b) 1:5 w zakresie temperatur 280-330 K w układzie wodnym.



RYSUNEK 4.6: Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol. Wiązania wodorowe są liczone pomiędzy cząsteczkami β CD i wody.

stosunku β CD:cholesterol, i tylko w niewielkim stopniu od zmian temperatury. W przypadku niskiego stosunku β CD:cholesterol wiązania wodorowe pojawiają się rzadko. Słaba zależność temperaturowa świadczy o dużej stabilności tego układu.

Symulacje wykazały, że powstają dwa typy kompleksów pomiędzy cząsteczkami β -cyklodekstryny i cholesterolu typu gość-gospodarz. Pierwszy kompleks jest tworzony przez interakcje hydrofobowego ogona węglowodorowego cząsteczki cholesterolu z hydrofobowym wnętrzem β -cyklodekstryny. Ten typ kompleksu przedstawiono na rysunku 4.8a. Natomiast drugi kompleks jest wynikiem oddziaływania czterech skondensowanych pierścieni węglowodorowych cholesterolu połączonych z grupą OH z wnętrzem β CD (rysunek 4.8b). Oba kompleksy są hydrofilowe i rozpuszczalne w wodzie. Umożliwia to transport cholesterolu w środowisku wodnym. Oba kompleksy są stabilne termodynamicznie jednakże ich energie wiązania na tyle niskie że ruchy termiczne powodują ich ciągły rozpad i ponowne tworzenie. W zależności od środowiska preferowany jest pierwszy lub drugi kompleks. W środowisku wodnym występuje częściej kompleks typu 1 (rysunek 4.8a), natomiast

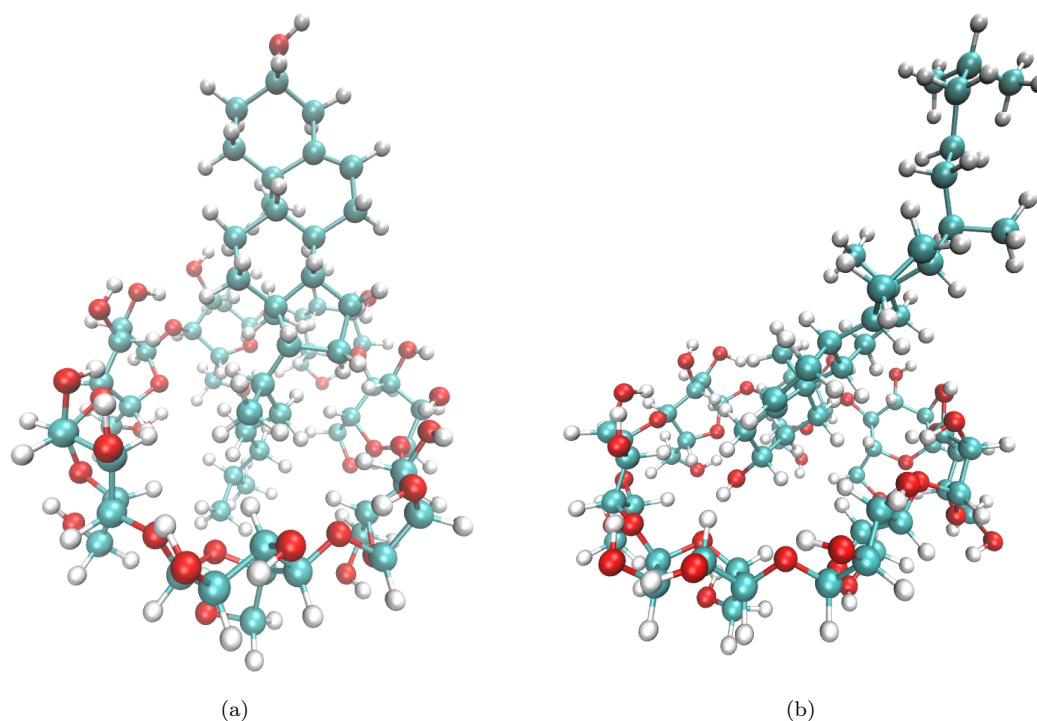


RYSUNEK 4.7: Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol. Wiązania wodorowe są liczone pomiędzy cząsteczkami β CD i cholesterolu w środowisku bezwodnym.

kompleks typu 2 (rysunek 4.8b) jest preferowany w środowisku bezwodnym.

Kompleks typu 1 jest preferowany w otoczeniu wody; grupa węglowodorowa cholesterolu wchodzi do wnętrza β CD, podczas gdy pierścienie węglowe wraz z grupą -OH pozostają poza β CD. Chociaż grupa -OH cholesterolu jest niewielka, w porównaniu do wielkości całej cząsteczki to oddziałuje ona z otaczającymi ją cząsteczkami wody, tworząc bardziej korzystną energetycznie konfigurację w środowisku wodnym. Struktura kompleksu typu 1 gwarantuje interakcję grupy OH z cząsteczkami wody. Przeciwnie, w środowisku bezwodnym korzystniejszy jest kompleks typu 2, w którym hydrofobowy ogon węglowodorowy wystaje poza cząsteczkę β CD. Na szeregu kolejnych rysunków pokazano różnice pomiędzy wynikami dla badanych układów w środowisku wodnym i bezwodnym.

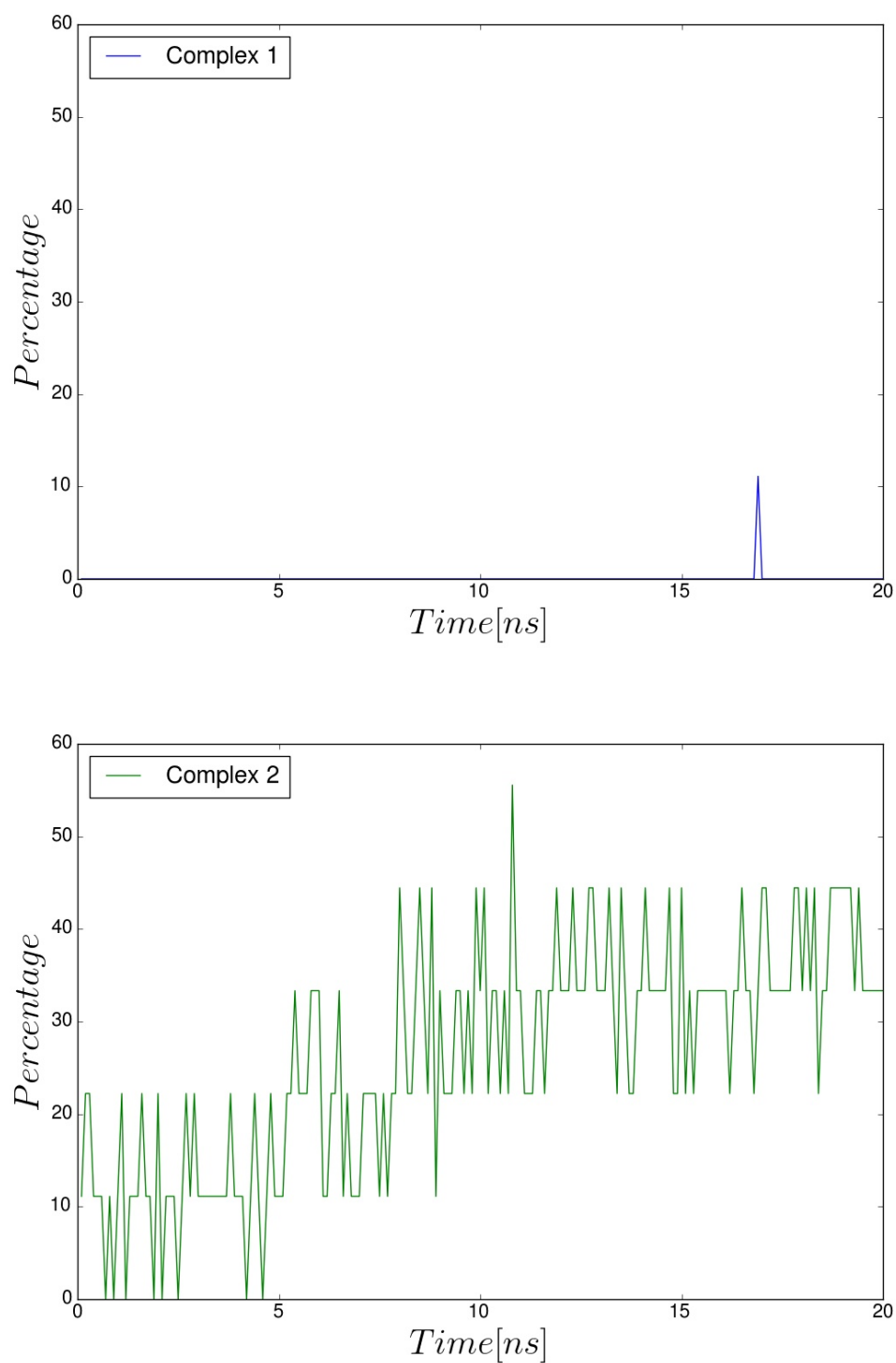
Na rysunkach 4.9 oraz 4.10 widnieje procentowa zawartość kompleksów β CD-cholesterol (w odniesieniu do całkowitej liczby cząsteczek β CD) w funkcji czasu, z rozróżnieniem rodzaju kompleksu odpowiednio dla układu bezwodnego i wodnego.



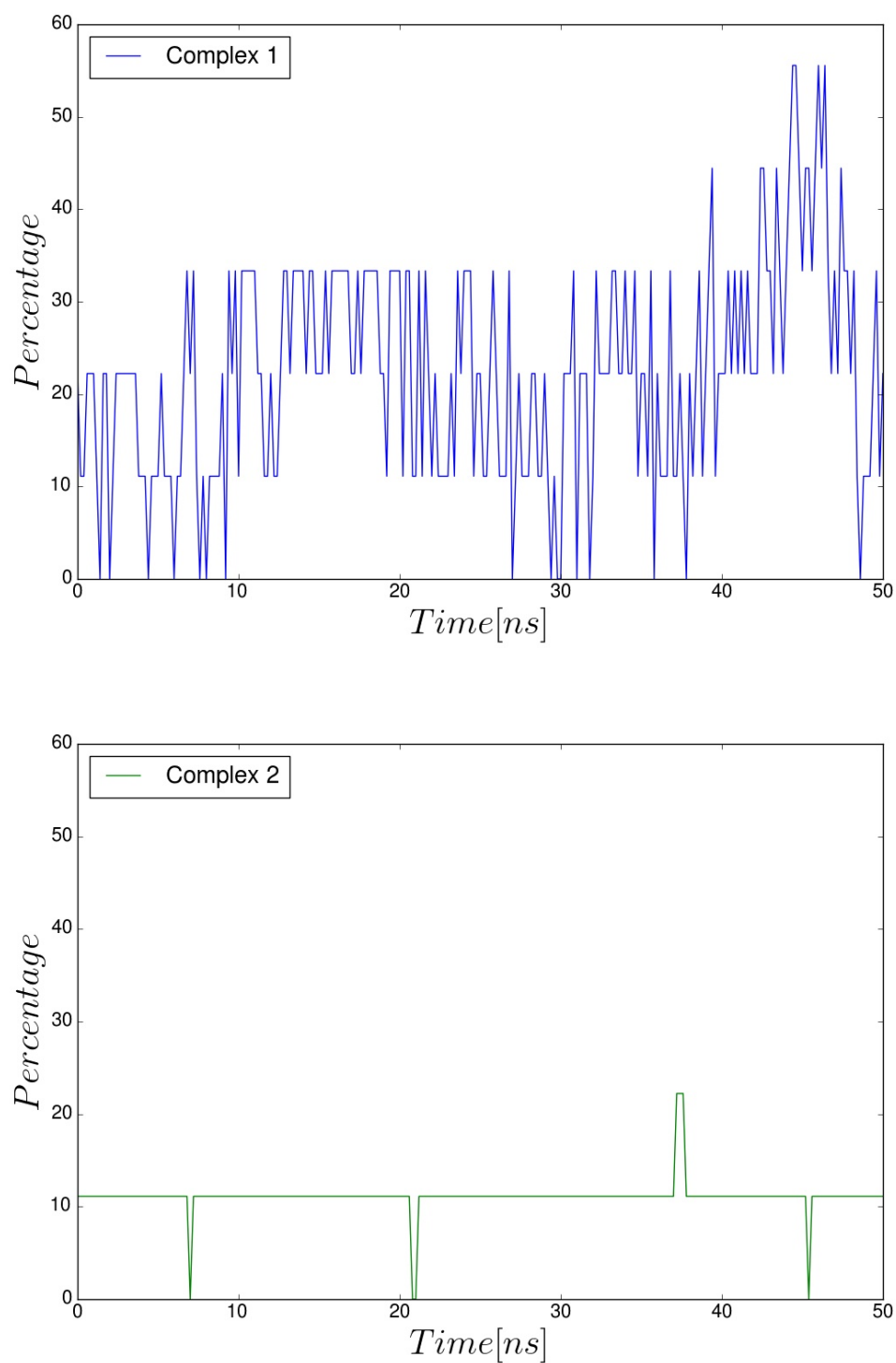
RYSUNEK 4.8: Rodzaje kompleksów: a) Kompleks 1: Grupa węglowodorowa cząsteczki cholesterolu znajduje się we wnętrzu β CD, b) Kompleks 2: Grupa -OH cząsteczki cholesterolu znajduje się we wnętrzu β CD.

Rysunki 4.11 i 4.12 ponownie potwierdzają poprzednią obserwację (rysunki 4.9, 4.10), że przy braku wody kompleksy typu 1 praktycznie nie pojawiają się, podczas gdy mogą się tworzyć i są obecne w środowisku wodnym.

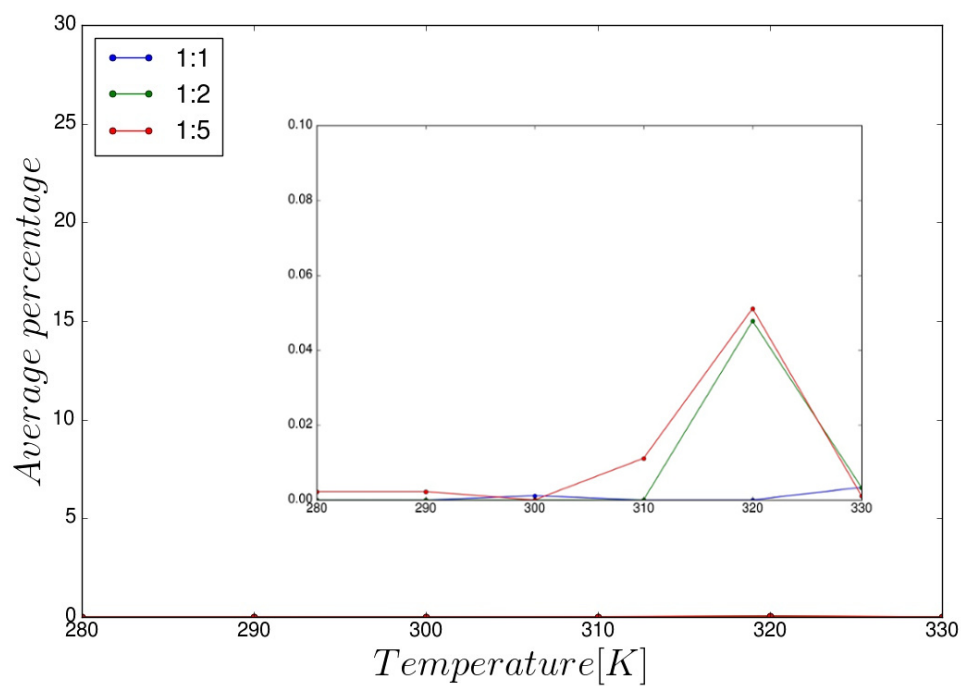
Dokonano również analizy pierwiastka ze średniego kwadratu przesunięcia pozycji atomowych (RMSD) [32, 79] w funkcji temperatury. Obliczenia przeprowadzono osobno dla cząsteczek β CD i cholesterolu. Na dwóch kolejnych rysunkach przedstawiono wykresy RMSD, jako funkcję temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol, w środowisku bezwodnym (rysunek 4.13) i wodnym (rysunek 4.14). Otrzymane wyniki pokazują, że ruchliwość cholesterolu i β -cyklodekstryny słabo zależą od temperatury w przypadku układów wodnych i bezwodnych. W obecności wody mobilność β -cyklodekstryny jest wyższa niż cząsteczek cholesterolu, podczas gdy dla układów bezwodnych sytuacja jest odwrotna. Te wyniki można wyjaśnić strukturą utworzonych klastrów. W środowisku wodnym cząsteczki β -cyklodekstryny tworzą otoczkę wokół cząsteczek cholesterolu (rysunek 4.3b),



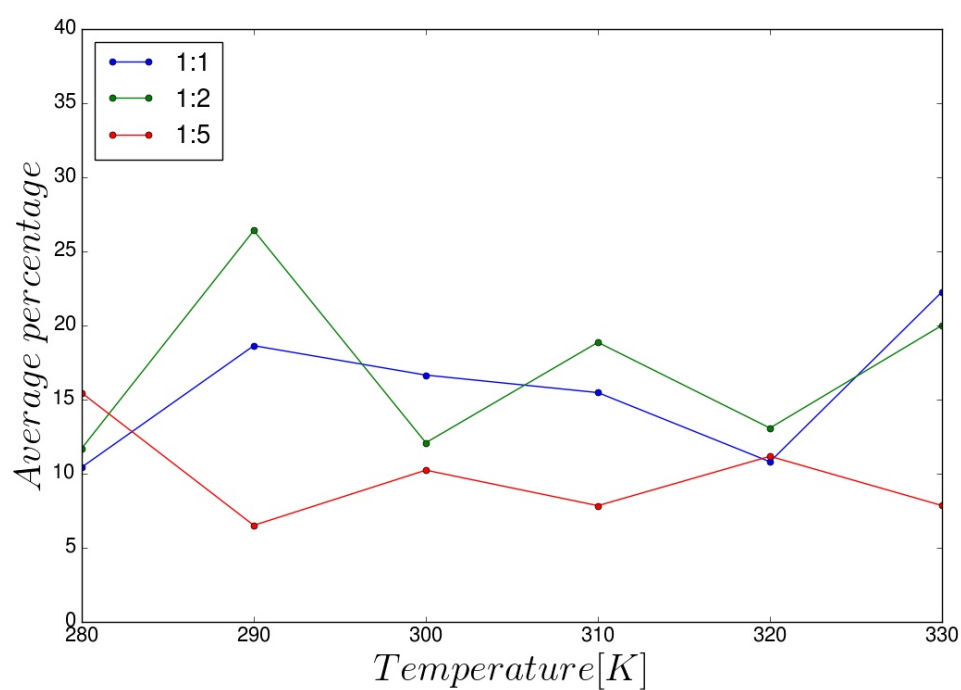
RYСУNEK 4.9: Procentowa zawartość kompleksów β CD-cholesterol w funkcji czasu, z rozróżnieniem rodzaju kompleksu. Są to pojedyncze serie symulacji, które otrzymano dla układu bezwodnego, przy stosunku β CD:cholesterol 1:5 w $T = 320\text{K}$.



RYСУNEK 4.10: Procentowa zawartość kompleksów β CD-cholesterol w funkcji czasu, z rozróżnieniem rodzaju kompleksu. Są to pojedyncze serie symulacji, które otrzymano dla układu wodnego, przy stosunku β CD:cholesterol 1:2 w $T = 330\text{K}$.

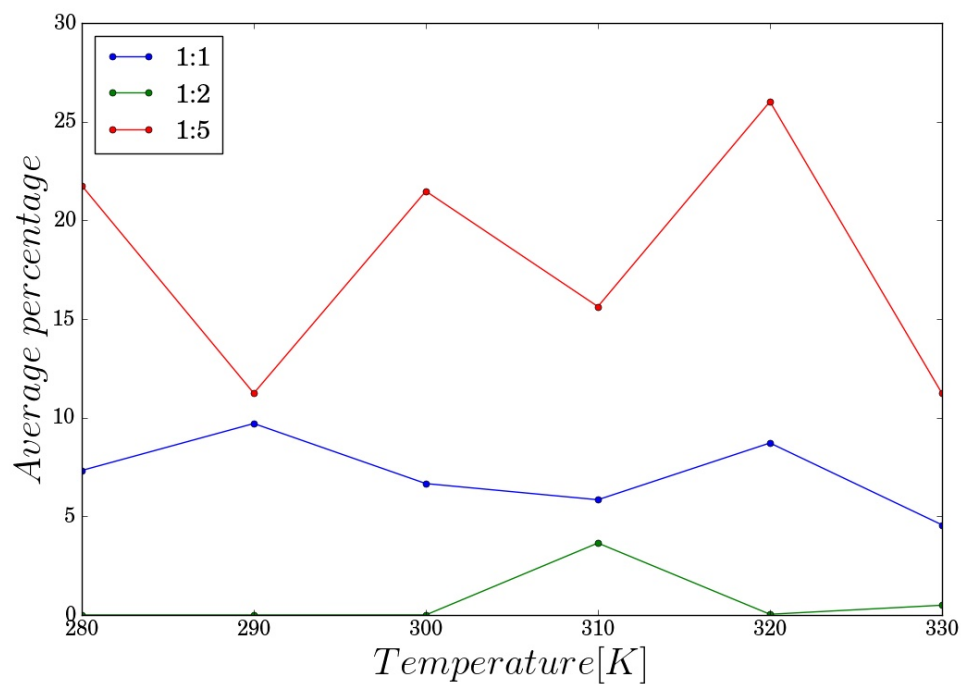


(a)

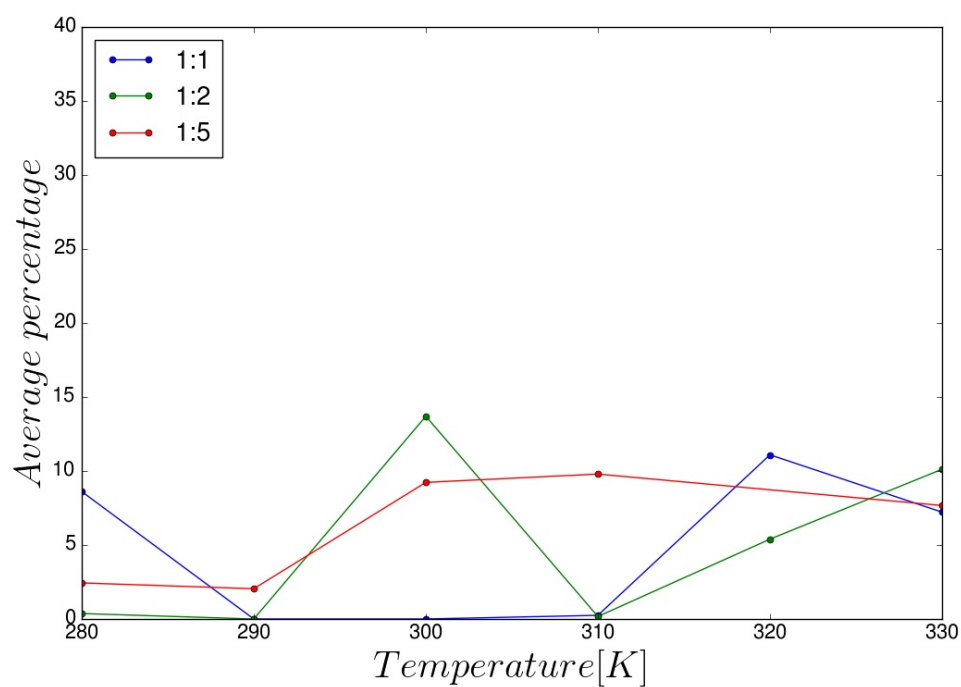


(b)

RYSUNEK 4.11: Średnia procentowa zawartość kompleksu typu 1 jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol : a) środowisko bezwodne, b) środowisko wodne. Na skali pionowej (0,0 – 30,0 %) wykres w punkcie a) jest praktycznie płaski, dlatego umieszczono wstawkę z mniejszą skalą (0,0 – 0,1 %).



(a)

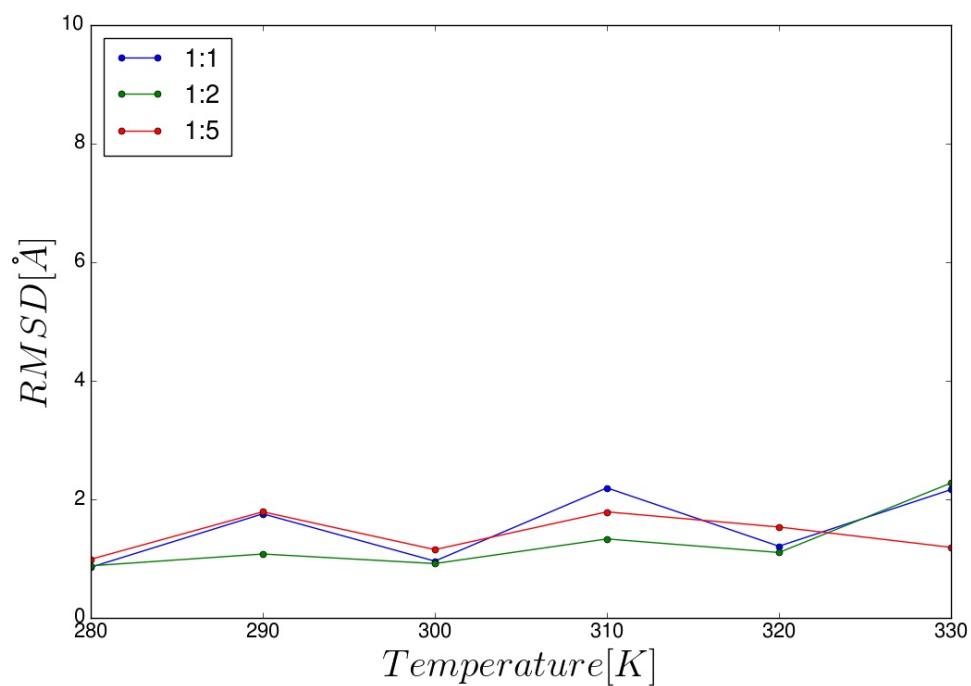


(b)

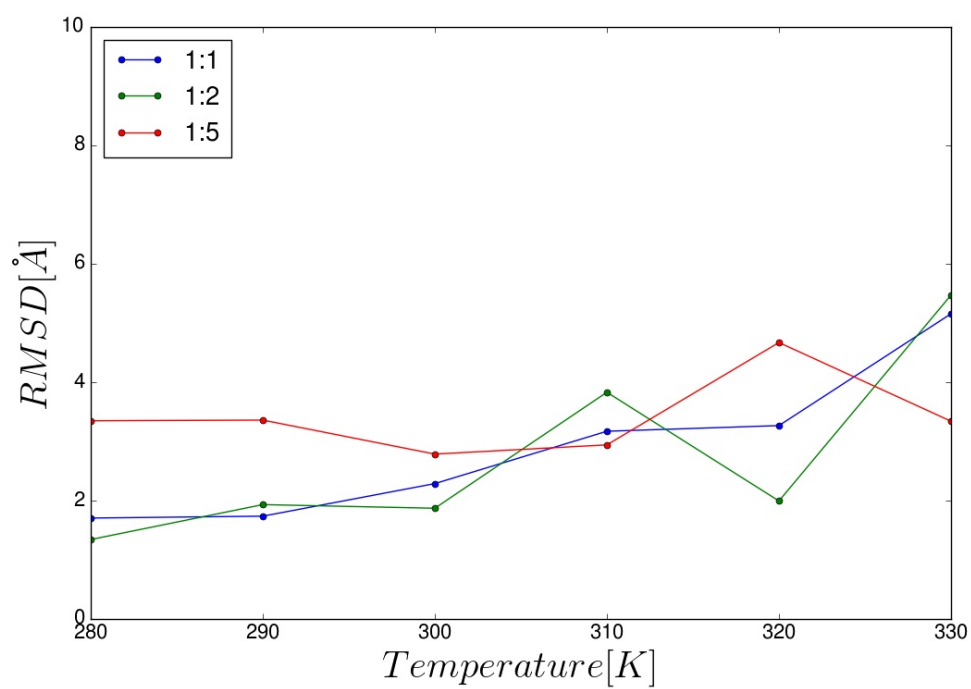
RYСУNEK 4.12: Średnia procentowa zawartość kompleksu typu 2 jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol : a) środowisko bezwodne, b) środowisko wodne.

podczas gdy w układach bezwodnych β -cyklodekstryna jest otoczona przez cholesterol (rysunek 4.3a) co ogranicza jej ruchliwość. Względnie mała ruchliwość cholesterolu i β -cyklodekstryny w środowisku bezwodnym sugeruje, że modelowane klastry tworzą fazę stałą. Wniosek ten jest poparty funkcją rozkładu radialnego obliczoną pomiędzy atomem tlenu cholesterolu i atomem tlenu z pierwszorzędowej grupy -OH β -cyklodekstryny w układzie bezwodnym przedstawionej na rysunku 4.15. Pierwszy, znaczący pik funkcji RDF znajduje się około 2.8 Å, więc atomy tlenu kompleksu β CD:cholesterol są bliskie. Ta cecha jest ściśle związana z tworzeniem się kompleksu typu 2. Stosunkowo słaba zależność od temperatury kształtu krzywej sugeruje, że układ jest stabilny i ma charakter amorficzny.

Przeprowadzono serię symulacji MD układów β -cyklodekstryna-cholesterol w środowisku wodnym i bezwodnym. Obecność wody ma istotne znaczenie dla badania tego typów układów. W wyniku oddziaływania β -cyklodekstryny z cholesterolem tworzą się dwa typy kompleksów. Występowanie konkretnego kompleksu jest ściśle związane z obecnością środowiska wodnego. Kompleks typu 1 (łańcuch węglowodorowy cholesterolu oddziałuje z wnętrzem β CD) jest preferowany w środowisku wodnym, natomiast kompleks typu 2 (oddziaływanie czterech skondensowanych pierścieni węglowodorowych cholesterolu połączonych z grupą OH z wnętrzem β CD) jest preferowany w środowisku bezwodnym. W kompleksie 1 grupa -OH cholesterolu pozostaje poza β -cyklodekstryną. Mimo iż grupa -OH cholesterolu jest niewielka, w porównaniu do wielkości całej cząsteczki to oddziałuje ona z cząsteczkami wody przez co kompleks 1 jest bardziej korzystny energetycznie w środowisku wodnym niż kompleks 2. Oba kompleksy są rozpuszczalne w wodzie i stabilne termodynamicznie. Dzięki temu możliwy jest transport cholesterolu w środowisku wodnym, w połączeniu z biokompatybilnością powoduje to, że β -cyklodekstryna i jej pochodne są rozważane jako potencjalni kandydaci na leki przeciwmiażdżycowe nowej generacji.

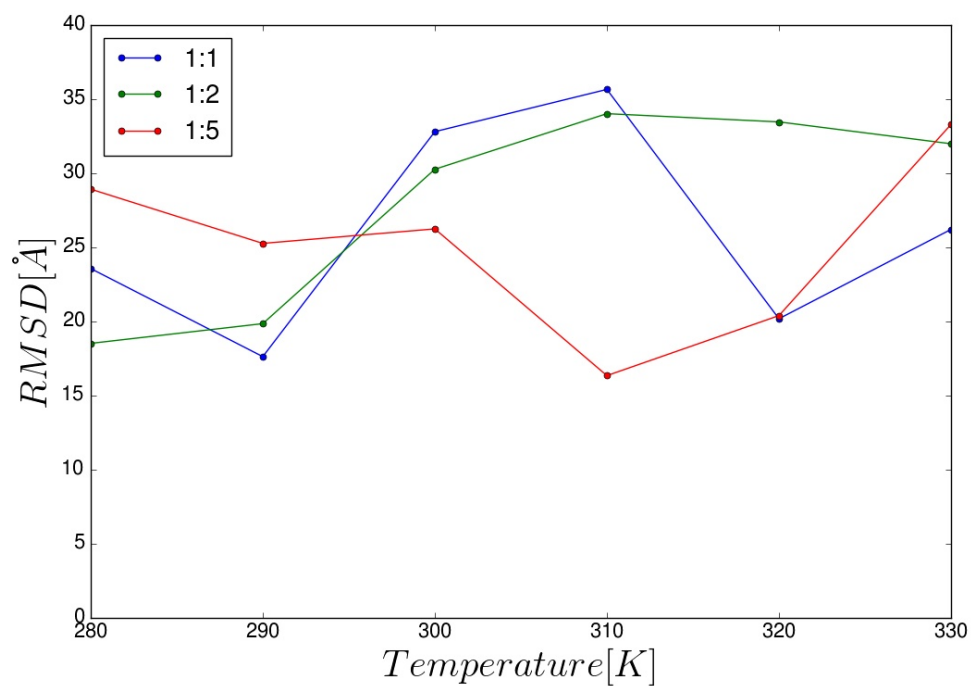


(a)

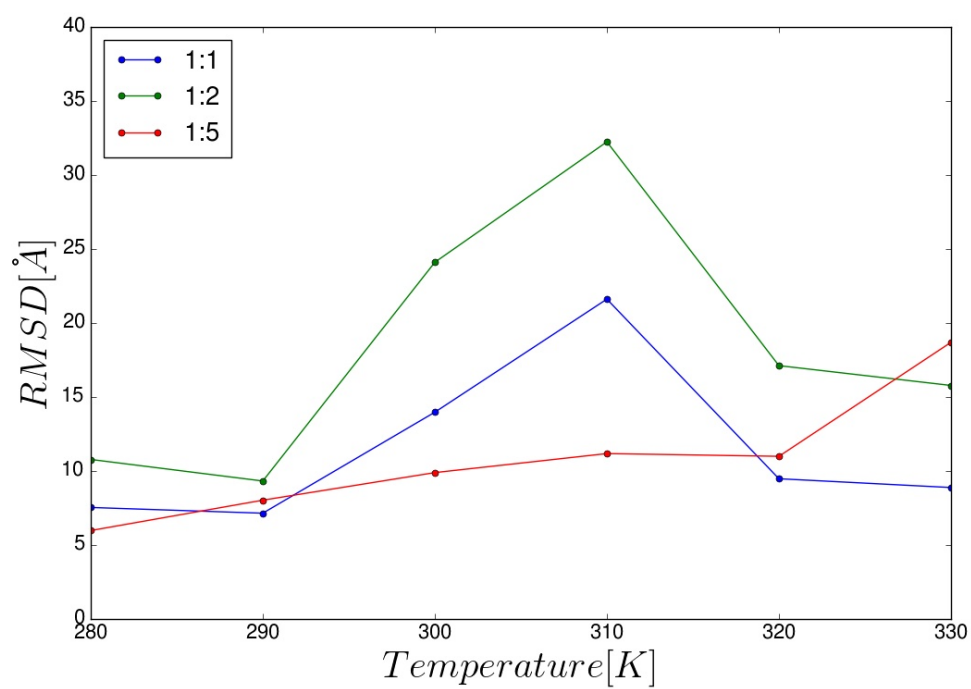


(b)

RYSUNEK 4.13: RMSD jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol (układ bezwodny) dla cząsteczek a) β CD i b) cholesterolu.

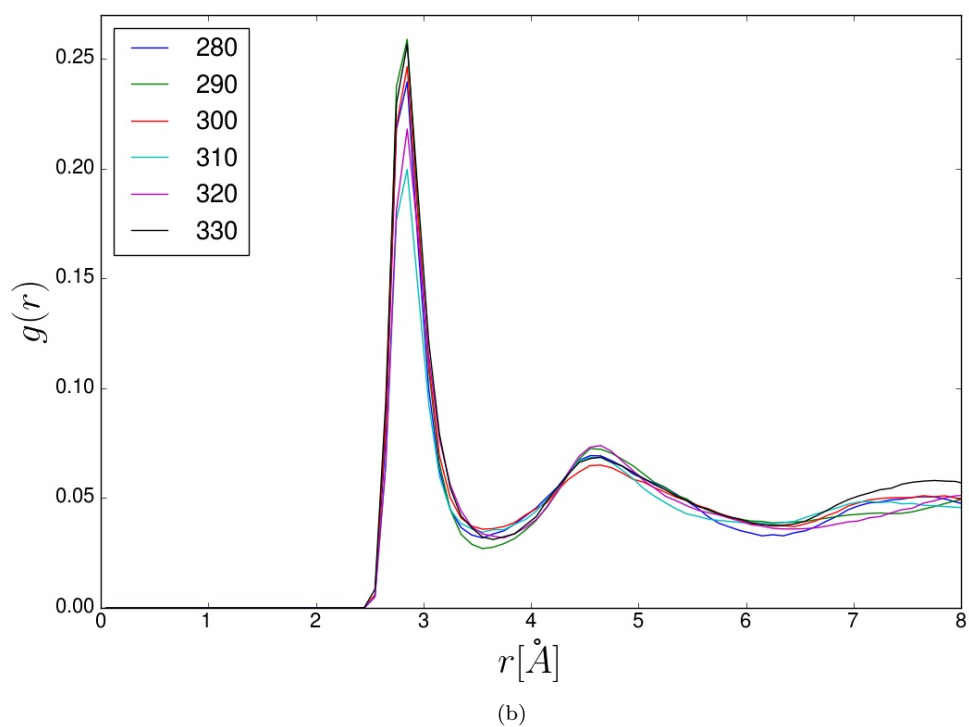
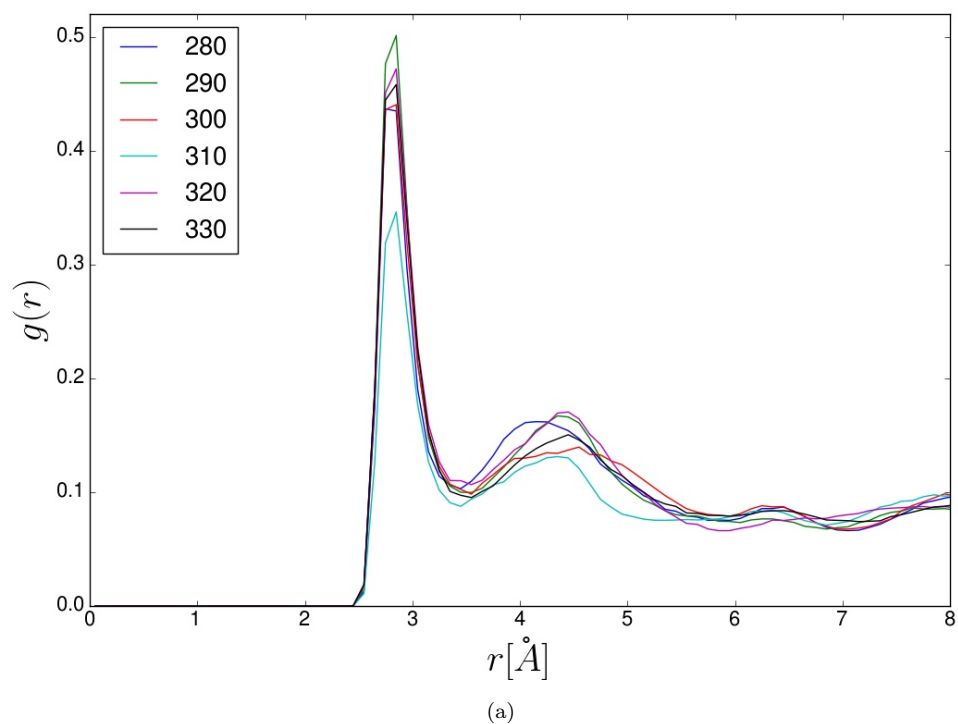


(a)



(b)

RYSUNEK 4.14: RMSD jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol (układ wodny) dla cząsteczek a) β CD i b) cholesterolu.



RYСУNEK 4.15: Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy atomem tlenu cholesterolu i atomem tlenu z pierwszorzędowej grupy -OH β -cyklodekstryny dla dwóch stosunków β CD:cholesterol: a) 1:1 i b) 1:5, w zakresie temperatur 280-330 K, dla środowiska bezwodnego.

Rozdział 5

Dynamika molekuł β -cyklodekstryny na warstwie grafenowej

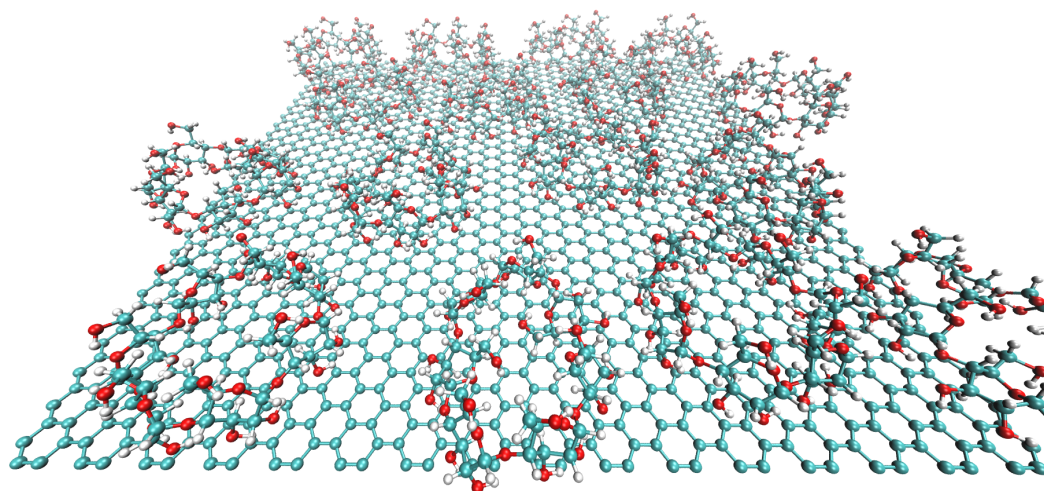
W ostatnich latach rośnie ilość badań dotyczących potencjalnych zastosowań biomedycznych grafenu [49]. Niestety grafen ma słabą rozpuszczalność w wodzie która jest głównym składnikiem układów biologicznych. Zdolność do wytwarzania wodnego roztworu lub wodnej zawiesiny substancji dostarczanych do próbki biologicznej jest bardzo pożądana [50]. Ponieważ grafen jest substancją hydrofobową to jego pojedyncze arkusze w środowisku wodnym mają tendencję do zlepiania się w większe aglomeraty i wytrącania ze środowiska wodnego. Inną kwestią ograniczającą wykorzystanie czystego grafenu jako składnika przyszłych urządzeń nanomedycznych lub systemów dostarczania leków jest jego cytotoksyczność [51–54]. Dlatego, aby móc zastosować grafen do biosystemów należy rozważyć jego dekorację odpowiednimi cząsteczkami. Obiecującym rozwiązaniem wydaje się być pokrycie warstwy grafenowej cząsteczkami β -cyklodekstryny. W związku z rosnącym zainteresowaniem potencjalnymi zastosowaniami funkcjonalizowanego grafenu [80–82], przeprowadzone zostały symulacje metodą MD oddziaływania między cząsteczkami β -cyklodekstryny i warstwą grafenową. Wiedza na temat rozkładu i dynamiki cząsteczek β CD na warstwie grafenowej jest bardzo pożądana, jeśli chodzi o rozważania nowych zastosowań grafenu w nanomedycynie lub biotechnologii.

Omówione w tym rozdziale wyniki zostały w znacznej części opublikowane w pracy "The dynamics of β -cyclodextrin molecules on graphene sheet. A molecular dynamics simulation study", Makieła D., Janus-Zygmunt I., Górny K., Gburski Z., Journal of Molecular Liquids, vol 288, (2019) 110974

Do przeprowadzenia symulacji metodą dynamiki molekularnej wykorzystano program NAMD, oraz VMD do wizualizacji wyników i przygotowania układu do symulacji. Do opisu oddziaływań międzycząsteczkowych użyto potencjału CHARMM. W płaszczyźnie XY umieszczono sztywną (atomy zostały unieruchomione) warstwę grafenową. Dzięki zastosowaniu periodycznych warunków brzegowych warstwa grafenowa jest ciągła. Zbadano zarówno układy w środowisku wodnym (rozmiar komórki symulacyjnej $66 \times 68 \times 100 \text{ \AA}$) jak i bezwodnym (rozmiar komórki symulacyjnej $66 \times 68 \times 140 \text{ \AA}$). Początkowo cząsteczki β CD były umieszczane na powierzchni grafenowej na trzy sposoby: a) pierwszorzędowe grupy -OH β CD przed ścianą grafenową (strona 1), b) drugorzędowe grupy -OH β CD przed ścianą grafenową (strona 2), c) pierwszo- i drugorzędowe grupy -OH β CD umieszczone na przemienne (strona 3) przed ścianą grafenową (rysunek 5.3). Zbadano zachowanie układu w przypadku wysokiej (16 β CD) jak i niskiej (9 β CD) koncentracji β CD. Stężenia β CD wybrano w celu pokrycia powierzchni grafenu. W przypadku wysokiej (16 β CD) koncentracji β CD cząsteczki wypełniają prawie całkowicie płaszczyznę grafenu. Gęstość powierzchniowa β CD w tym przypadku wynosi $5.92 \cdot 10^{-7} \text{ mol/m}^2$, gęstość objętościowa 59,2 mM. Drugie wybrane stężenie (9 β CD) jest znacznie niższe (gęstość powierzchniowa $3.33 \cdot 10^{-7} \text{ mol/m}^2$, gęstość objętościowa 33,3 mM). Układy symulowane były w temperaturach: 280, 290, 300, 310, 320, 330 K. Dla każdej temperatury przeprowadzono pięć niezależnych przebiegów symulacji. Badane układy były termostatowane za pomocą termostatu Langevina o współczynnika tłumienia 1 ps^{-1} . Odległość odcięcia dla wszystkich oddziaływań niewiążących wynosiła 10 \AA . W symulacjach układów wodnych ciśnienie 1 atmosfery kontrolowano przy pomocy barostatu Langevina z okresem 100fs i stałą czasową tłumienia 50 fs. Długozasięgowe siły elektrostatyczne zostały uwzględnione za pomocą metody Particle Mesh Ewald [22]. Krok czasowy dla każdej symulacji wynosił $\Delta t = 1 \text{ fs}$. Symulacje zostały przeprowadzone w zespole NPT (stała

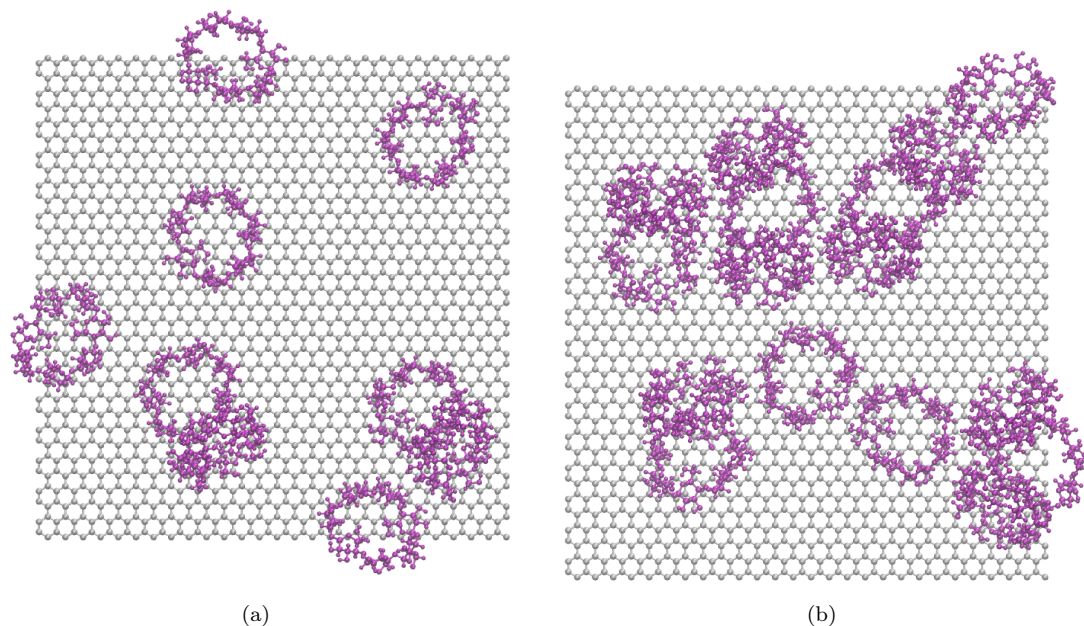
liczba cząstek, stałe ciśnienie i temperatura) dla układów w środowisku wodnych i NVT (stała liczba cząstek, stała objętość i temperatura) dla układów w środowisku bezwodnym. Były one równoważone przez $5 \cdot 10^6$ kroków czasowych. Do całkowania równań ruchu został wykorzystany standardowy algorytm (algorytm Brünger–Brooks–Karplus) zaimplementowany w NAMD [77]. Następnie, celem wyznaczenia wielkości makroskopowych charakteryzujących układ zbierano dane dotyczące trajektorii co 2000 kroków symulacji (2 ps) przez 30 ns. W symulacjach wykorzystano model wody TIP3P CHARMM [78]. Wszystkie cząsteczki były modelowane na poziomie atomistycznym.

Aby zobrazować badany system, przedstawiono przykłady równowagowych konfiguracji cząsteczek β CD zaadsorbowanych na warstwie grafenu w środowisku wodnym, zarówno dla niskiego, jak i wysokiego stężenia β -cyklodekstryn (rysunki 5.1 oraz 5.2).



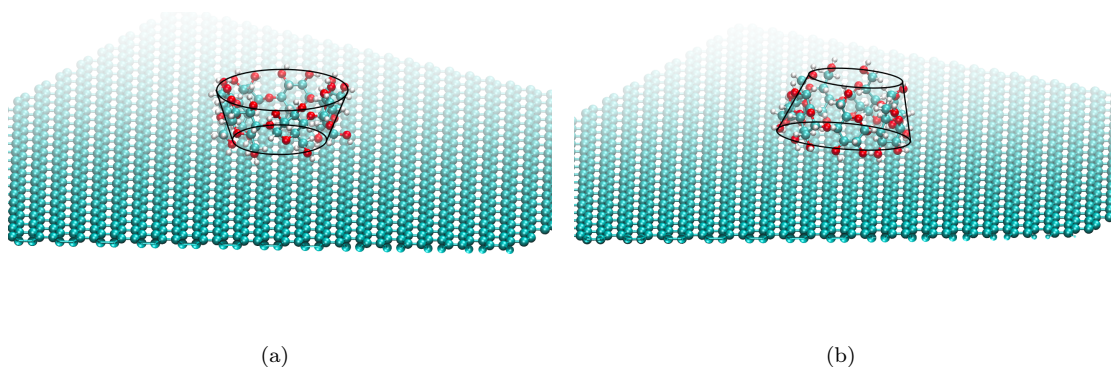
RYSUNEK 5.1: Wygląd symulowanego układu. Cząsteczki wody nie są pokazane dla przejrzystości obrazu.

Z obserwacji trajektorii cząsteczek β CD wynika że są one dość mobilne, tzn. łatwo przemieszczają się po powierzchni grafenu. Jednocześnie nie opuszczają powierzchni grafenu, chociaż są otoczone wodą. Dynamika cząsteczek β CD wydaje się być zupełnie inna, jeśli rozważyć ruch wzdłuż płaszczyzny grafenu(płaszczyzna XY) i w kierunku prostopadłym do niej (oś z). Ponadto, ruchliwość β CD różni się, w



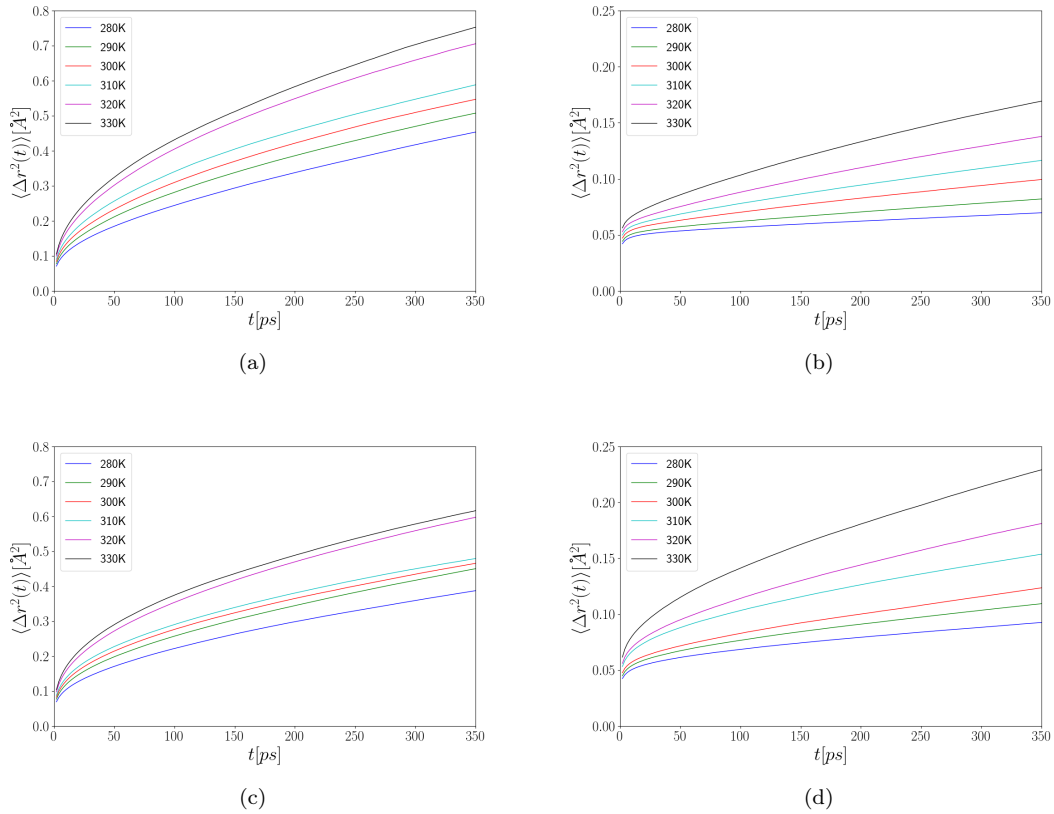
RYSUNEK 5.2: Konfiguracje równowagowe cząsteczek β CD na grafenie w środowisku wodnym dla a) niskiej, b) wysokiej koncentracji β CD. Cząsteczki wody nie są pokazane dla przejrzystości obrazu.

zależności od tego, czy β -cyklodekstryny są zorientowane w stronę arkusza grafenu pierwszo- (stroną 1) lub drugo- (stroną 2) rzędowymi grupami -OH (patrz 5.3). Kolejne wykresy dokumentują w sposób systematyczny wszystkie powyższe obserwacje.



RYSUNEK 5.3: Ułożenie cząsteczki β CD na płaszczyźnie grafenu a) strona 1, b) strona 2.

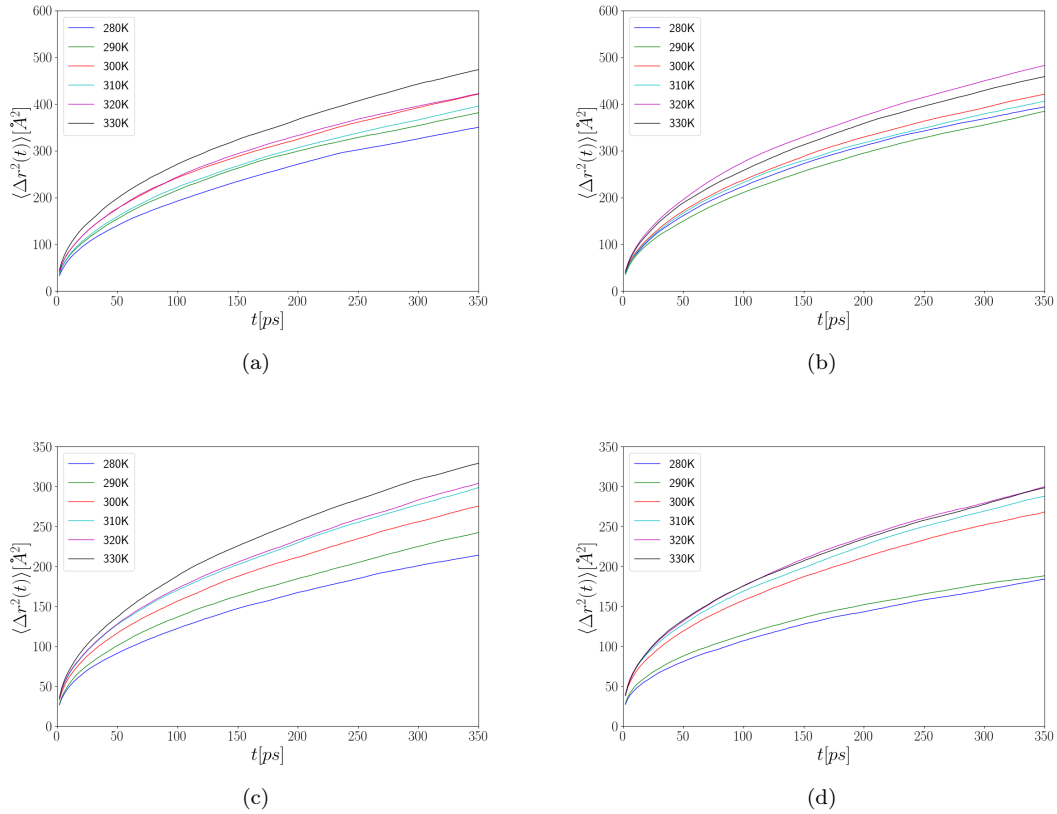
Wykres 5.4 pokazuje średnie kwadratowe przesunięcie $\langle |\Delta \vec{r}_\perp(t)|^2 \rangle$ środka masy cząsteczki β CD, gdzie $\Delta \vec{r}_\perp(t) = \vec{r}_\perp(t) - \vec{r}_\perp(0)$ i \vec{r}_\perp jest składową wektora przemieszczenia \vec{r} , prostopadłą do płaszczyzny grafenu.



RYSUNEK 5.4: Średnie kwadratowe przesunięcie β -cyklodekstryny w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu: a) niska koncentracja (strona 1), b) niska koncentracja (strona 2), c) wysoka koncentracja (strona 1), d) wysoka koncentracja (strona 2).

Analiza średniego kwadratowego przemieszczenia środka masy cząsteczki β CD dla składowej wektora przemieszczenia prostopadłej do płaszczyzny grafenu pokazuje że ruch cząsteczek β CD w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu (kierunek z) jest wolniejszy dla strony 2 w porównaniu do strony 1, dla danego stężenia. Wpływ zmiany koncentracji na mobilność β CD jest słaby. Rysunek 5.5 przedstawia średnie kwadratowe przesunięcia $\langle |\Delta \vec{r}_{\parallel}(t)|^2 \rangle$ środka masy cząsteczki β CD, gdzie $\Delta \vec{r}_{\parallel}(t) = \vec{r}_{\parallel}(t) - \vec{r}_{\parallel}(0)$ i \vec{r}_{\parallel} jest składową wektora przemieszczenia \vec{r} , równoległą do płaszczyzny grafenu.

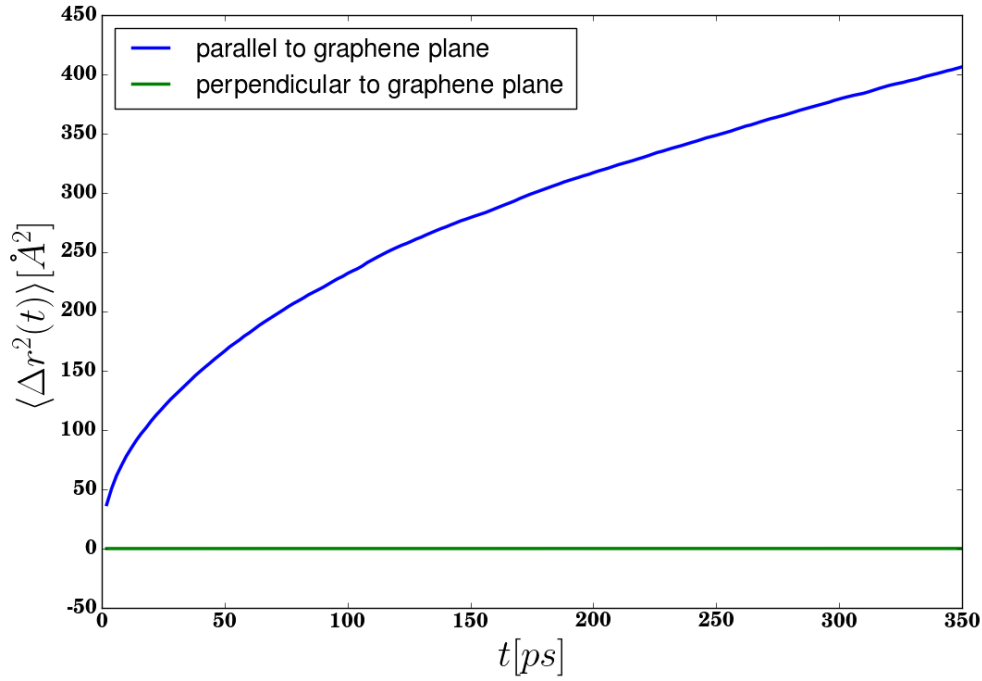
W przypadku ruchu w płaszczyźnie warstwy grafenowej mobilność cząsteczek β CD jest mniejsza dla wyższych koncentracji i nie zależy od początkowego rozmieszczenia molekuł β CD. Mobilność w płaszczyźnie (rysunek 5.5) warstwy grafenowej cząsteczek β CD jest prawie trzy rzędy (rysunek 5.6) wielkości większa niż w



RYSUNEK 5.5: Średnie kwadratowe przesunięcie β -cyklodekstryny w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu: a) niska koncentracja (strona 1), b) niska koncentracja (strona 2), c) wysoka koncentracja (strona 1), d) wysoka koncentracja (strona 2).

kierunku prostopadłym (rysunek 5.4) do płaszczyzny grafenu. Zachowanie β CD na powierzchni grafenu jest charakterystyczne dla fazy ciekłej. Cząsteczki β CD tworzą dwuwymiarową fazę ciekłą na grafenie.

Obliczono współczynnik dyfuzji i energię aktywacji cząsteczek β CD, związane z ich ruchem translacyjnym w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu (oś z). Współczynnik dyfuzji translacyjnej D dla ruchu jednowymiarowego można uzyskać za pomocą relacji Einsteina, $\langle |\Delta \vec{r}_\perp(t)|^2 \rangle \approx 2Dt$, nachylenie uzyskane z liniowego fragmentu (od 100 ps do 250 ps) $\langle |\Delta \vec{r}_\perp(t)|^2 \rangle$ jest wskaźnikiem słabej ruchliwości cząsteczek β CDs w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu. Aktywację termiczną dyfuzji translacyjnej można opisać prawem Arrheniusa:



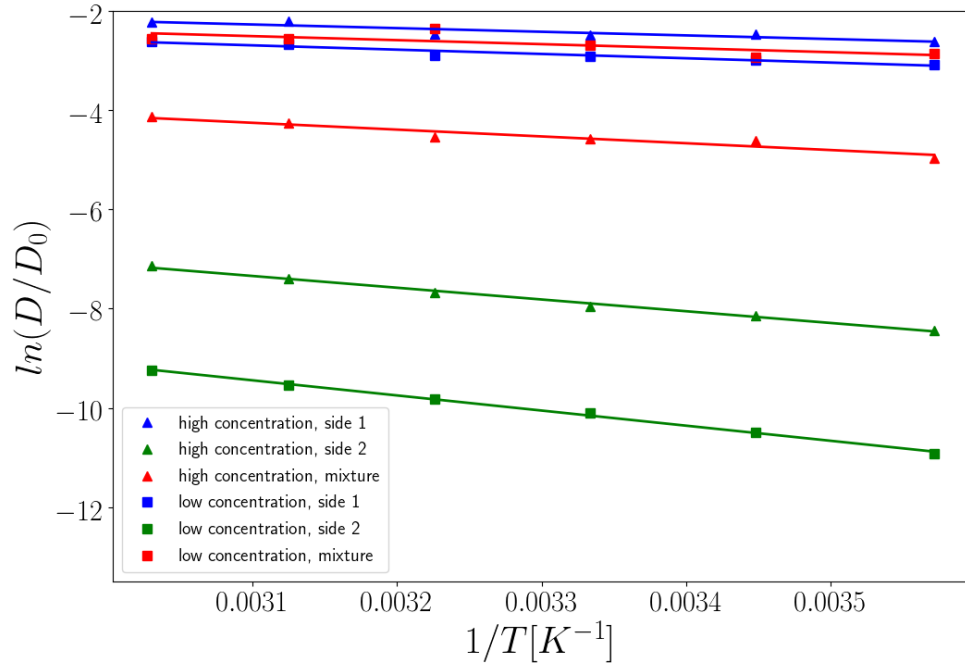
RYSUNEK 5.6: Średnie kwadratowe przesunięcie β CD w kierunku równoległym i prostopadłym do płaszczyzny grafenu.

$$D = D_0 \exp\left(\frac{E_a}{k_B T}\right), \quad (5.1)$$

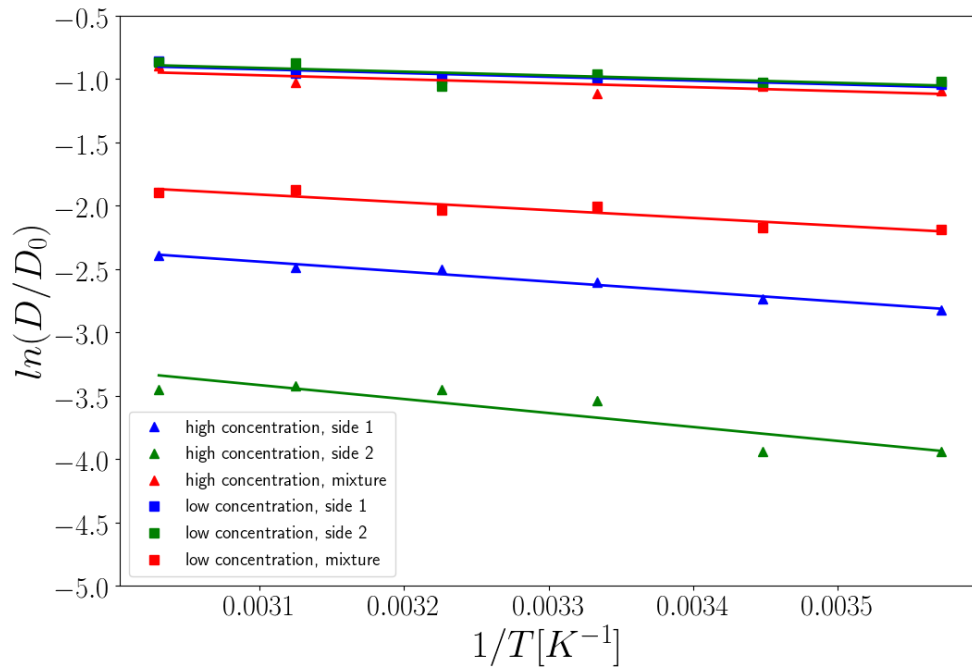
gdzie k_B jest stałą Boltzmanna a E_a jest energią aktywacji. Dopasowanie danych przy użyciu prawa Arrheniusa pozwoliło oszacować energię aktywacji dyfuzji E_a (rysunek 5.7 i Tabela 5.1).

W przypadku ruch cząsteczek β CD w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu ważną rolę odgrywa orientacja cząsteczek β CD. Cząsteczki umieszczone w konfiguracji 2 są silniej związane z warstwą grafenową, mają tendencję do pozostawania na niej i rzadziej opuszczają arkusz grafenu w porównaniu do konfiguracji 1.

Obliczono współczynnik dyfuzji i energię aktywacji cząsteczek β CD, związane z ich ruchem translacyjnym w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu (rysunek 5.8 i Tabela 5.2). Współczynnik dyfuzji translacyjnej dla ruchu dwuwymiarowego w płaszczyźnie można uzyskać za pomocą relacji Einsteina, $\langle |\Delta \vec{r}_{\parallel}(t)|^2 \rangle \approx 4Dt$.



RYSUNEK 5.7: Aktywacja termiczna dyfuzji translacyjnej w kierunku prostym do płaszczyzny grafenu.



RYSUNEK 5.8: Aktywacja termiczna dyfuzji translacyjnej w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu.

TABELA 5.1: Parametry E_a i D_0 dyfuzji w kierunku osi z , prostopadłym do warstwy grafenowej.

	Wysoka koncentracja		Niska koncentracja	
	Strona 1	Strona 2	Strona 1	Strona 2
$E_a[kJ/mol]$	6.1	19.7	7.2	25.3
$D_o[m^2/s]$	$4.9 \cdot 10^{-11}$	$2.3 \cdot 10^{-9}$	$9.6 \cdot 10^{-11}$	$1.5 \cdot 10^{-8}$
	Mieszanina		Mieszanina	
$E_a[kJ/mol]$	11.4		6.7	
$D_o[m^2/s]$	$2.2 \cdot 10^{-10}$		$5.1 \cdot 10^{-11}$	

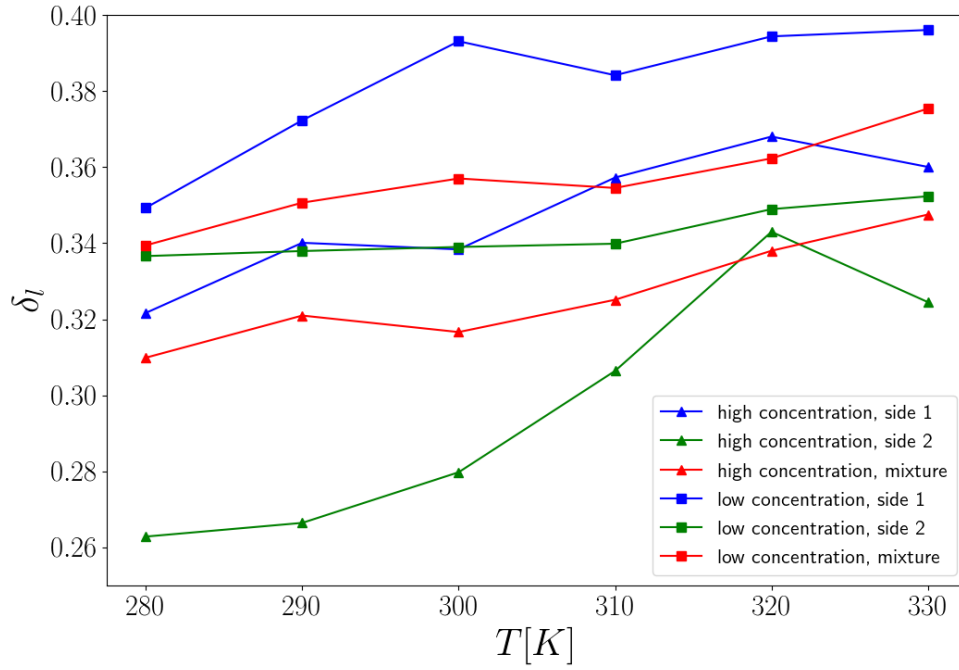
TABELA 5.2: Parametry E_a i D_0 dyfuzji na warstwie grafenowej.

	Wysoka koncentracja		Niska koncentracja	
	Strona 1	Strona 2	Strona 1	Strona 2
$E_a[kJ/mol]$	6.5	9.2	2.5	2.4
$D_o[m^2/s]$	$1.7 \cdot 10^{-8}$	$4.3 \cdot 10^{-8}$	$5.2 \cdot 10^{-9}$	$5.4 \cdot 10^{-9}$
	Mieszanina		Mieszanina	
$E_a[kJ/mol]$	2.6		5.1	
$D_o[m^2/s]$	$3.7 \cdot 10^{-9}$		$1.5 \cdot 10^{-8}$	

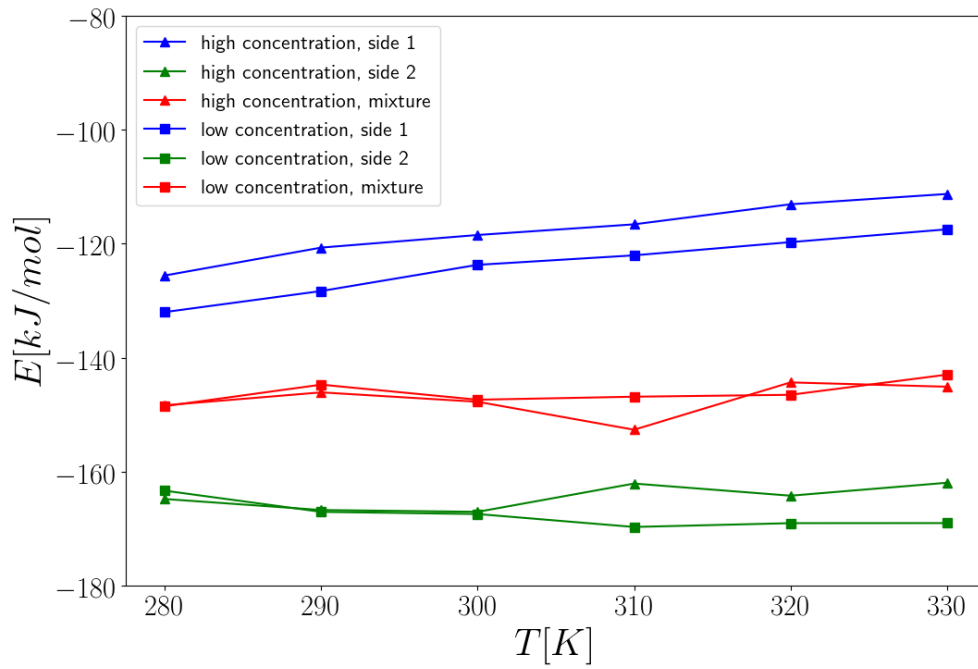
Ruch cząsteczek β CD w płaszczyźnie warstwy grafenowej jest zależny od stężenia cząsteczek β CD. Mobilność jest większa przy niższej koncentracji ponieważ molekuły β CD mają więcej dostępnej przestrzeni na powierzchni grafenowej.

Na rysunku 5.9 przedstawiono temperaturową zależność indeksu Lindemanna cząsteczek β CD zaadsorbowanych na warstwie grafenowej. Jego wartości wskazują, że system ma charakterystykę płynną i nie ma przejścia fazowego w obserwowanym zakresie temperatur. Chociaż przedstawione wartości indeksu Lindemanna zostały obliczone z uwzględnieniem ruchu trójwymiarowego, przemieszczenie β CD jest ograniczone do ruchu na płaszczyźnie grafenu i jest to główny wkład do indeksu Lindemanna. Uzyskane wartości indeksu Lindemanna sugerują, że dla badanych stężeń cząsteczki β CD tworzą stabilną dwuwymiarową fazę ciekłą na powierzchni grafenu.

Wyznaczono średnią energię oddziaływania Van der Waalsa między atomami węgla warstwy grafenowej i cząsteczek β CD (rysunek 5.10). Energia interakcji została znormalizowana przez liczbę cząsteczek β CD w systemie. Energia interakcji jest silniejsza dla drugiej konfiguracji cząsteczek β CD, dlatego ich ruch w kierunku

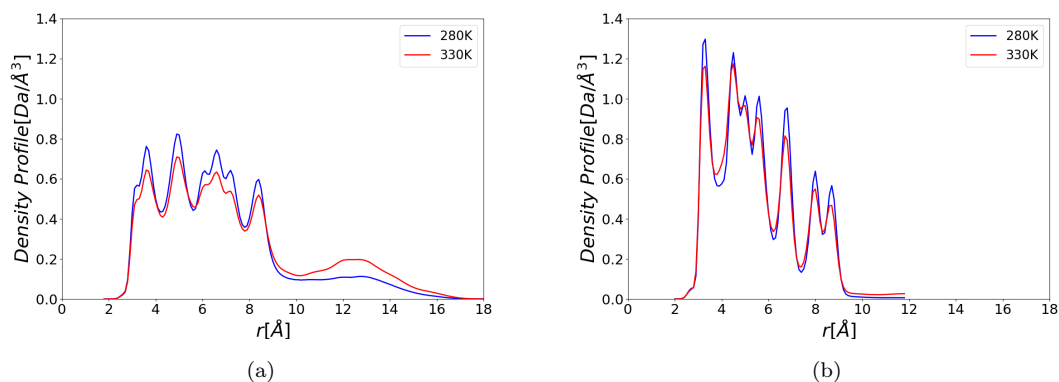


RYSUNEK 5.9: Indeks Lindemanna dla cząsteczek β CD na warstwie grafenowej w środowisku wodnym.

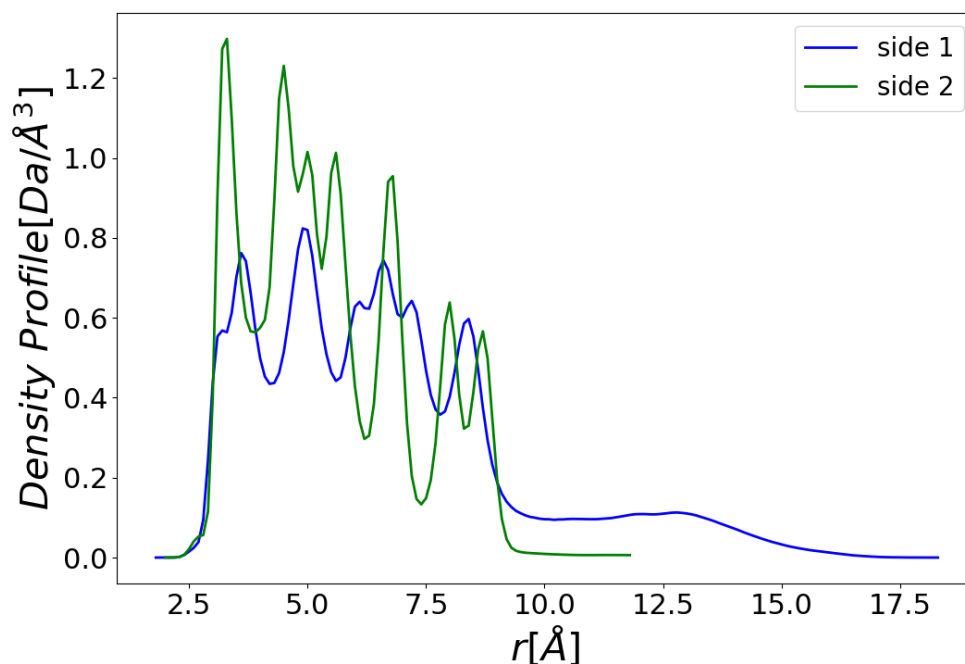


RYSUNEK 5.10: Energia interakcji oddziaływań niezwiązanych pomiędzy atomami węgla arkusza grafenowego i cząsteczek β CD.

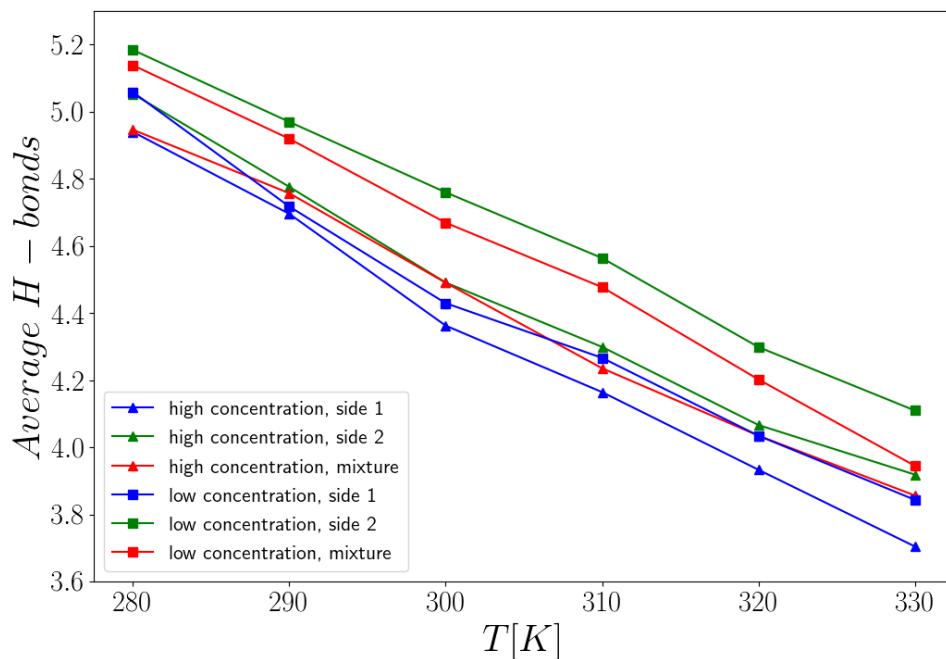
prostopadłym do arkusza grafenowego jest wolniejszy niż w przypadku konfiguracji pierwszej. Słaba zależność energii interakcji grafen- β CD od koncentracji β CD tłumaczy jej słaby wpływ na mobilność cząsteczek β CD w kierunku prostopadłym do płaszczyzny. Znajduje to odzwierciedlenie w profilach gęstości w kierunku osi z dla cząsteczek β CD (rysunki 5.11 i 5.12).



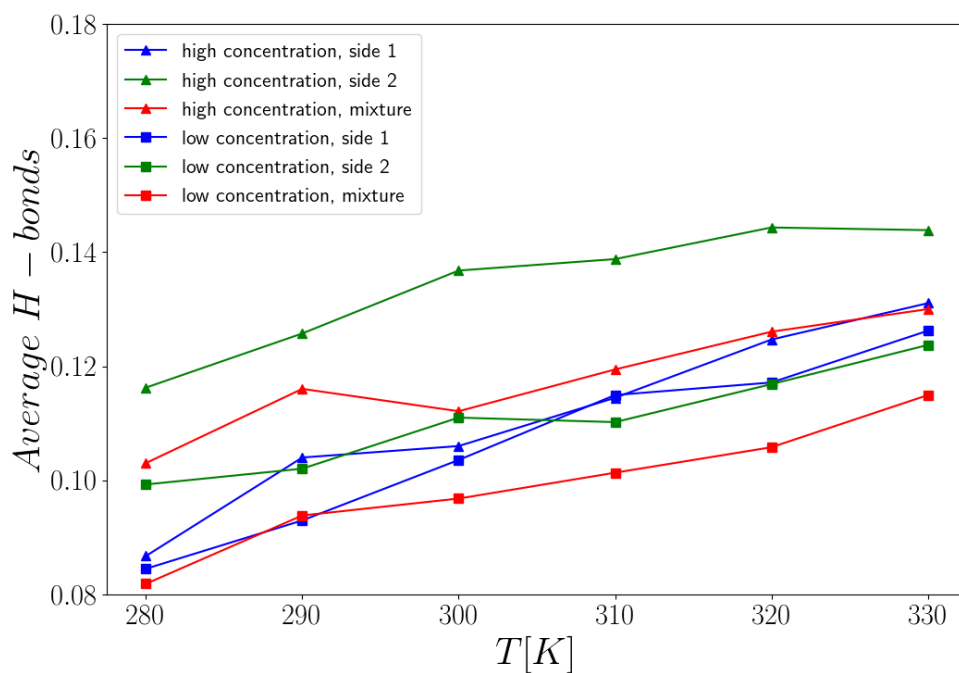
RYSUNEK 5.11: Profil gęstości dla cząsteczek β CD w kierunku osi z przy wysokiej koncentracji β CD i początkowego ułożenia na warstwie grafenowej a) stronę 1, b) stronę 2.



RYSUNEK 5.12: Profil gęstości cząsteczek β CD w kierunku osi z dla wysokiej koncentracji β CD i $T = 280$ K.



RYSUNEK 5.13: Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy cząsteczkami β CD a cząsteczkami wody.

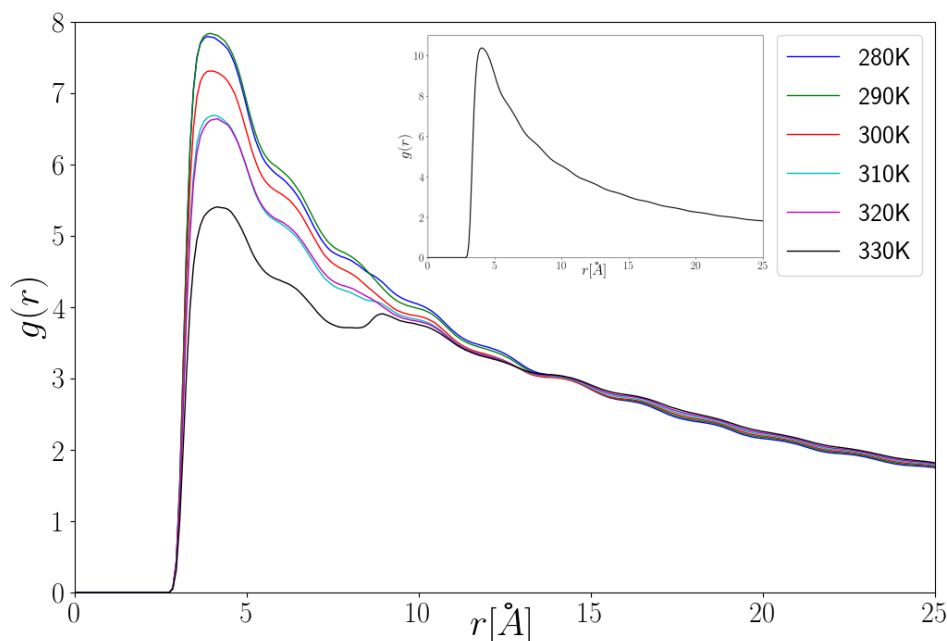


RYSUNEK 5.14: Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy cząsteczkami β CD a β CD.

Dokonano również analizy średniej liczby wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy β CD i wodą (rysunek 5.13) lub β CD- β CD (rysunek 5.14). Liczba wiązań wodorowych maleje wraz ze wzrostem temperatury dla przypadku β CD-woda i rośnie w przypadku β CD- β CD. Wzrost liczby wiązań wodorowych z temperaturą w przypadku par β CD- β CD jest odzwierciedleniem częściowej klasteryzacji cząsteczek β CD na powierzchni grafenu wraz ze wzrostem temperatury. Proces klasteryzacji cząsteczek β CD jest słaby. We wszystkich badanych układach, nawet dla najwyższej temperatury, nie zaobserwowano całkowitej desorpcji β CD z powierzchni grafenu i utworzenia klastra molekularnego.

Ostatnią z wyznaczonych charakterystyk badanych układów jest funkcja radialnego rozkładu $g(r)$. Została ona obliczona (rysunek 5.15) pomiędzy atomami węgla z warstwy grafenowej a atomami tlenu z pierwszorzędowej grupy -OH β CD dla układów o początkowej orientacji β CD na stronie 1 i niskiej koncentracji. Lokalizacja pierwszego pików $g(r)$ jest stabilna (około 4 Å), natomiast jego wysokość zmniejsza się wraz ze wzrostem temperatury. Odzwierciedla to niewielki wzrost mobilności β CD w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu, wraz ze wzrostem temperatury i częściową ich reorientację. Dodatkowy wykres na rysunku 5.15 przedstawia funkcję $g(r)$ obliczoną pomiędzy atomami węgla z warstwy grafenowej a atomami tlenu z drugorzędowej grupy -OH β CD dla układów o początkowej orientacji β CD na stronie 2 i niskiej koncentracji. Przedstawiono tylko jeden reprezentatywny wykres $g(r)$ dla temperatury fizjologicznej $T = 310$ K, ponieważ w tym przypadku wszystkie krzywe $g(r)$ są bardzo podobne dla wszystkich badanych temperatur. Wspiera to obserwację, że układ z początkową orientacją po stronie 2 jest bardziej stabilny i korzystny energetycznie niż układ z początkową orientacją po stronie 1. W tym przypadku cząsteczki β CD mają tendencję do pozostawania blisko powierzchni grafenowej, ich migracja w kierunku prostopadłym do warstwy jest znacznie słabsza i prawie nie zależy od temperatury w obserwowanym zakresie temperatur.

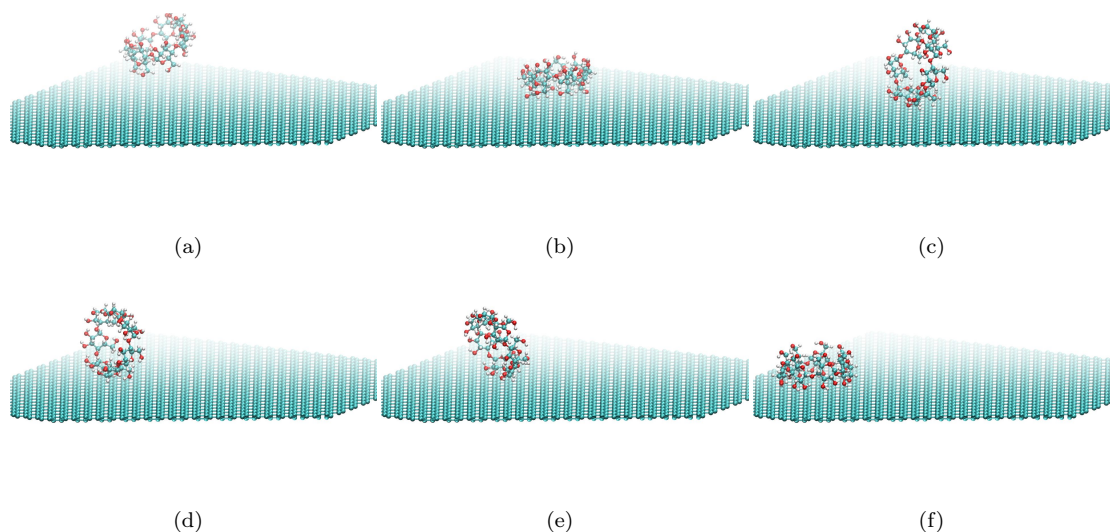
Wykonano również dodatkowe symulacje z arkuszem grafenowym umieszczonym w



RYSUNEK 5.15: Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy atomami węgla z warstwy grafenowej a atomami tlenu z pierwszorzędowej grupy -OH β CD dla początkowej orientacji β CD na stronie 1 i niskiej koncentracji β CD. Dodatkowy wykres przedstawia funkcję radialnego rozkładu pomiędzy atomami węgla z warstwy grafenowej a atomami tlenu z drugorzędowej grupy -OH β CD dla początkowej orientacji β CD na stronie 2 i niskiej koncentracji.

środku komórki symulacyjnej, wypełnionego cząsteczkami wody i losowo umieszczonymi w nim cząsteczkami β CD. Zaobserwowano, że po pewnym czasie cząsteczki β CD przesunęły się w kierunku grafenu, tworząc ostatecznie warstwę β CD na powierzchni grafenu. Prowadzi to do uzyskania hydrofilowego, rozpuszczalnego w wodzie materiału zachowującego właściwości grafenu. Przeanalizowano również proces zmiany orientacji cząsteczek β CD na powierzchni grafenu w środowisku wodnym. W naszych symulacjach zauważono kilka przypadków odwrócenia cząsteczek β CD na warstwie grafenu, ze strony pierwszej na drugą, natomiast nie zaobserwowano odwrotnego procesu. Kolejne etapy osiadania pojedynczej molekuly na powierzchni grafenowej i jej reorientacji z strony 1 na 2 zostały przedstawione na rysunku 5.16. Zmianę orientacji pojedynczej cząsteczki poprzedza jej częściowa desorpcja (rysunek 5.16c). Reorientacja molekuł pojawiła się okazjonalnie w układach o początkowej konfiguracji na stronie pierwszej lub mieszanej, a także w symulacjach wychwytywania cząsteczek β CD przez warstwę grafenową.

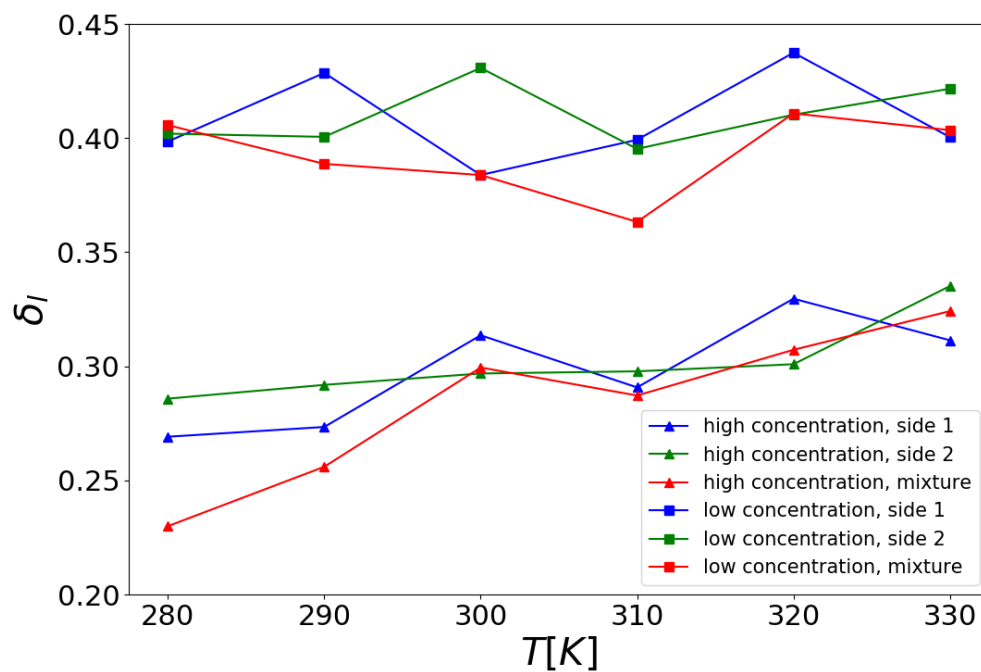
Opisany proces reorientacji pojedynczej cząsteczki przyczynia się do zmniejszenia pierwszego pików $g(r)$ przedstawionego na rysunku 5.15.



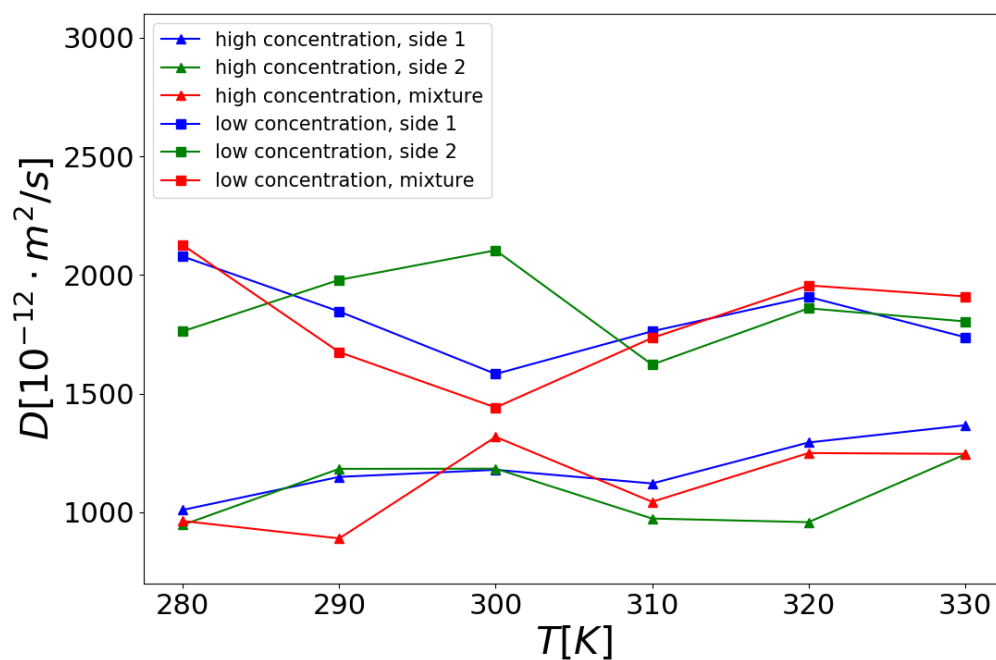
RYSUNEK 5.16: Sekwencja wizualizacji obrazujących kolejne etapy osiadania pojedynczej molekuły β CD na powierzchni grafenowej i jej reorientacji z strony 1 na 2. Cząsteczki wody i inne cząsteczki β CD nie są pokazane dla przejrzystości obrazu.

Przedstawione do tej pory wyniki symulacji komputerowych dotyczą układów wodnych. W przypadku symulacji dla układów bezwodnych obserwujemy silniejsze klasteryzacje cząsteczek β CD na powierzchni grafenowej. Obserwuje się mniejszą zależność mobilności cząsteczek β CD w kierunku prostopadłym do warstwy grafenowej, od ich początkowej orientacji. Natomiast w przypadku ruchu wzdłuż płaszczyzny grafenu, wciąż istnieją dwie rodziny krzywych (rysunki 5.17 oraz 5.18), w zależności od stężenia β CD i tym samym dostępnej powierzchni grafenowej na cząsteczkę β CD. W przeciwieństwie do środowiska wodnego w środowisku bezwodnym ruch cząsteczek β CD jest słabo zależny od temperatury i nie może być opisany przez prawo Arrheniusa.

Przeprowadzono serię symulacji MD układów β -cyklodekstryna-grafen. Badane układy wykazują bardzo interesującą cechę. Symulacje wskazują, że zarówno w obecności, jak i przy braku wody cząsteczki β CD pokrywają powierzchnię grafenu, ale nie są silnie związane z pojedynczymi centrami adsorpcji. Ruch β CD po arkuszu grafenu (dyfuzja dwuwymiarowa) jest stosunkowo łatwy, natomiast ruch w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu jest silnie ograniczony. Ruch



RYSUNEK 5.17: Indeks Lindemanna dla cząsteczek β CD na warstwie grafenowej w środowisku bezwodnym.



RYSUNEK 5.18: Współczynniki dyfuzji translacyjnej cząsteczek β CD w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu w środowisku bezwodnym.

w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu jest mocniej ograniczony gdy cząsteczki β CD są umieszczone na powierzchni grafenowej drugą stroną (rysunek 5.3b). Wynika to z większej interakcji między β CD a grafenem. Cząsteczki β CD tworzą dwuwymiarową fazę ciekłą na powierzchni grafenu. Cienka warstwa utworzona na grafenie przez molekuły β CD pozostaje stosunkowo stabilna w środowisku wodnym i w szerokim, istotnym z punktu widzenia zastosowań biotechnologicznych zakresie temperatur. Grafen pokryty warstwą β -cyklodekstryny jest hydrofilowy, co jest ważną i pożądaną cechą przy rozważaniu zastosowań biomedycznych. Efekt ten powinien znacznie zwiększyć biokompatybilność grafenu, otwierając nowe pola dla praktycznych zastosowań grafenu w nanomedycynie i ukierunkowanych systemach dostarczania leków. Zaprezentowane w tym rozdziale wyniki symulacji komputerowych mogą mieć istotny wkład w przyszłe badania nad zastosowaniem materiałów opartych na grafenie w medycynie molekularnej i nanotribologii.

Rozdział 6

Micele fosfolipidowe z udziałem β -cyklodekstryny

Wcześniejsze badania symulacyjne wykazały, że fosfolipidy mają silne powinowactwo do nanorurek węgla krzemu i węgla, tworząc na ich powierzchni cienkie warstwy [83, 84]. Lipidy można także kapsułkować przez kompleksowanie z β CD lub jego pochodnymi. Interakcja między lipidami i cyklodekstrynami lub ich pochodnymi jest nie tylko określona przez wielkość wewnętrznej wnęki cyklodekstryny, ale także przez grupy chemiczne otaczające wejście do wnęki. Naturalnie powstaje pytanie, czy β CD i jej pochodne można wykorzystać do ekstrakcji określonych rodzajów lipidów z biomembran lub miceli [85]. Ten pomysł był przedmiotem wielu badań eksperymentalnych, na przykład za pomocą spektroskopii NMR [86, 87], mikroskopii fluorescencyjnej [88], rozpraszania neutronów [89], mikroskopu Brewstera [90] lub kalorymetrii [91]. Niniejszy rozdział pokazuje wykorzystanie metody dynamiki molekularnej (MD) do dokładnego zbadania wpływu β -cyklodekstryny na tworzenie miceli fosfolipidowych składających się z 1,2-dimyristoil-sn-glikero-3-fosfocholiny (DMPC) w środowisku wodnym. W kontekście opracowywania nowatorskich technik dostarczania ukierunkowanych leków, dalsze badanie interakcji między β CD i fosfolipidami, takimi jak DMPC, jest szczególnie interesujące [85, 92, 93]. Przedstawione symulacje mogą być użyteczne przy

interpretacji przyszłych pomiarów eksperymentalnych i mogą pomóc w projektowaniu wydajnych nanonośników opartych na β CD.

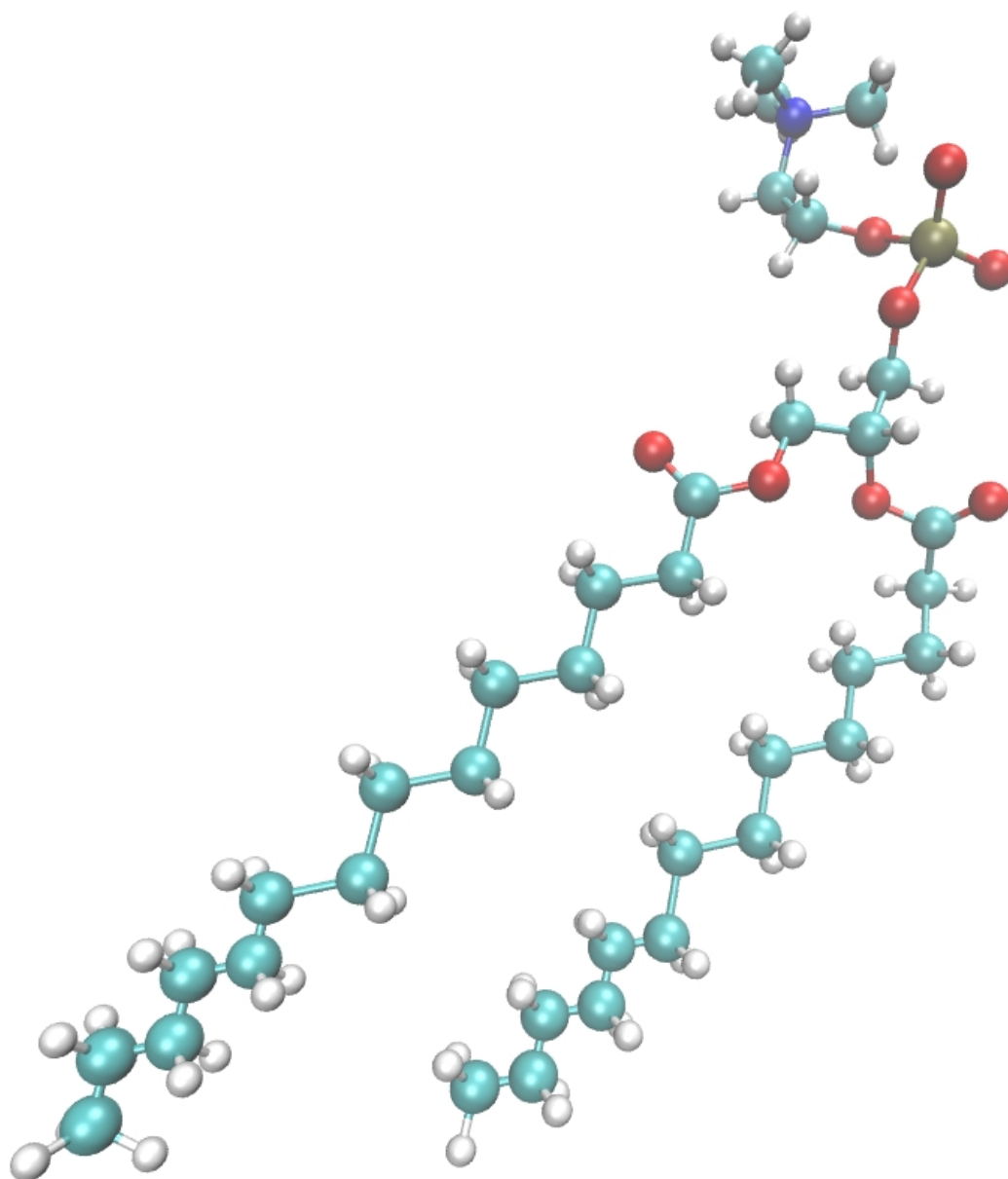
Zaprezentowane tutaj wyniki będą wkrótce opublikowane w pracy "The effect of β -cyclodextrin on the formation of phospholipid micelles. A molecular dynamics simulation study", D. Makiela, K. Górny, Z. Gburski, przyjętej do druku w *Acta Physica Polonica A*.

W ramach badań zrealizowane zostały symulacje wpływu β -cyklodekstryny na tworzenie miceli fosfolipidowych. Do przeprowadzenia symulacji metodą dynamiki molekularnej wykorzystano program NAMD oraz VMD, który pozwala na wizualizację wyników i przygotowanie układu do symulacji. Do opisu oddziaływań międzycząsteczkowych użyto potencjału CHARMM.

Badane układy były złożone z 9 cząsteczek β -cyklodekstryny [94] oraz 9, 18, 45 cząsteczek DMPC w środowisku wodnym z periodycznymi warunkami brzegowymi. Początkowe rozmiary komórki symulacyjnej wynosiły 100 x 100 x 100 Å. Liczba cząsteczek wody zawartych w komórce symulacyjnej wynosiła 30850, 30208 i 28400 molekuł odpowiednio dla stosunku β CD:DMPC 1:1, 1:2 i 1:5. W tych symulacjach ciśnienie 1 atmosfery kontrolowano przy pomocy barostatu Langevina z okresem 100fs i stałą czasową tłumienia 50fs. Długozasięgowe siły elektrostatyczne zostały uwzględnione za pomocą metody Particle Mesh Ewald [22]. Symulacje zostały przeprowadzone w zespole NPT (stała liczba cząstek, stałe ciśnienie i temperatura) w środowisku wodnych. Krok czasowy dla każdej symulacji wynosił $\Delta t = 1fs$. Do całkowania równań ruchu został wykorzystany standardowy algorytm (algorytm Brünger–Brooks–Karplus) zaimplementowany w NAMD [77].

Następnie, celem wyznaczenia wielkości makroskopowych charakteryzujących układ zbierano dane dotyczące trajektorii co 2000 kroków symulacji (2 ps) przez 50 ns. Układy symulowane były w temperaturach: 280, 290, 300, 310, 320, 330 K. Badane układy były termostatowane za pomocą termostatu Langevina o współczynniku tłumienia $1ps^{-1}$. W symulacjach wykorzystano model wody TIP3P CHARMM [78]. Odległość obcięcia dla wszystkich oddziaływań niewiążących wynosiła 10 Å.

Wszystkie cząsteczki były modelowane na poziomie atomistycznym. Strukturę cząsteczki DMPC pokazano na rysunku 6.1.



RYSUNEK 6.1: Struktura cząsteczki DMPC – wizualizacja VMD

Początkowa konfiguracja układu powstała poprzez umieszczenie dziewięciu cząsteczek β -cyklodekstryny pomiędzy dwiema warstwami cząsteczek DMPC. Rysunek 6.2 przedstawia sekwencję wizualizacji obrazujących proces transformacji początkowej struktury kanapkowej w końcową. Cząsteczki DMPC mają tendencję do łączenia się tworząc micele, natomiast cząsteczki β -cyklodekstryny przyklejają się do jej powierzchni. Sugeruje to, że w środowisku wodnym interakcje DMPC-DMPC

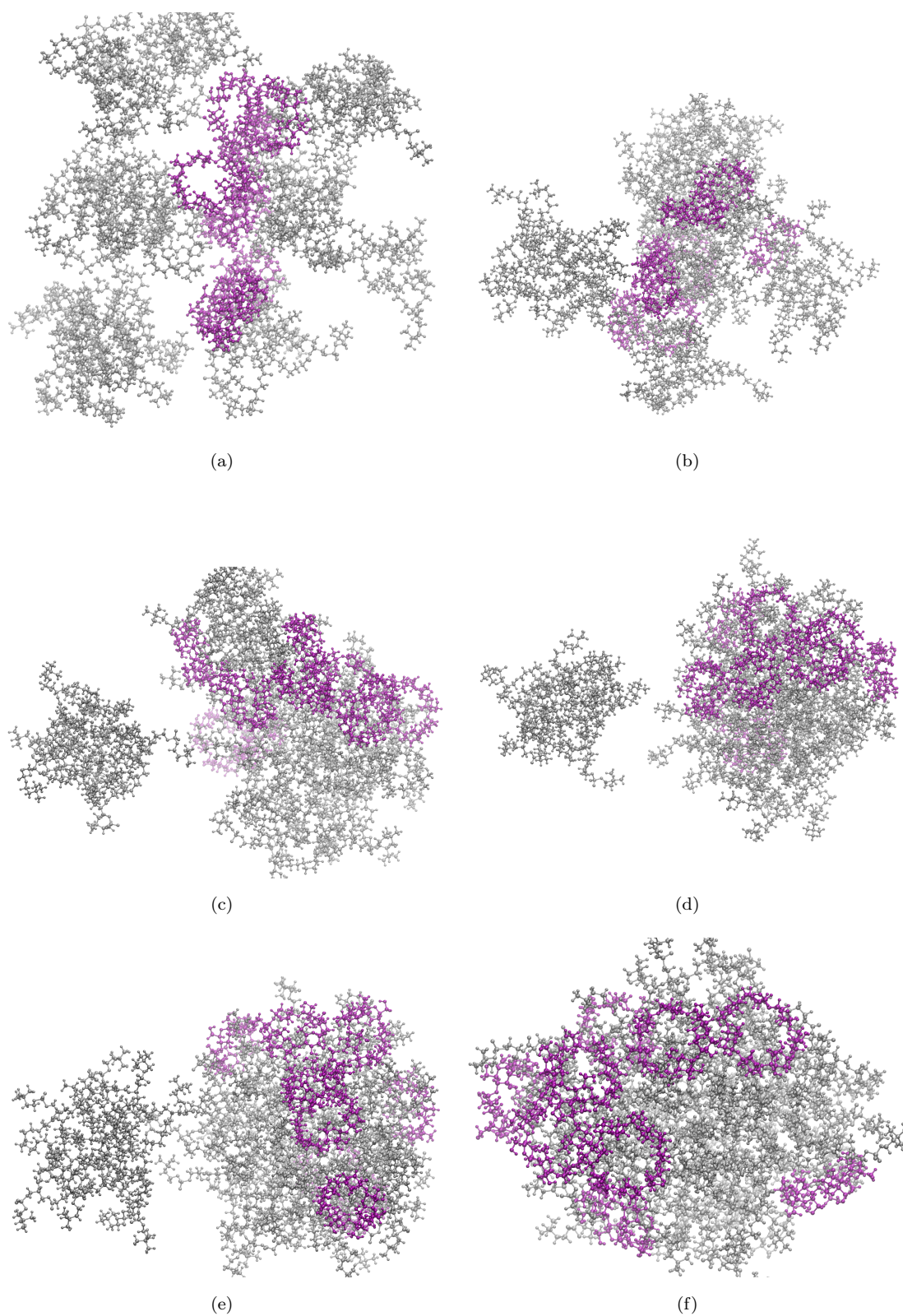
przewyższają oddziaływania β CD-DMPC. Cząsteczki DMPC łączą się tworząc klaster, natomiast cząsteczki β -cyklodekstryny przyklejają się do jego powierzchni. Oddziaływanie cząsteczek β CD z DMPC są zbyt słabe, aby wyciągnąć cząsteczki DMPC z utworzonego klastra.

Jedną z wyznaczonych charakterystyk badanych układów jest średnia ilość wiązań wodorowych na cząsteczkę β -cyklodekstryny w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy cząsteczkami β CD i wody, a także pomiędzy cząsteczkami β CD i DMPC. Nasze obliczenia wykazały, że cząsteczki β CD mają większe powinowactwo do cząsteczek wody niż do cząsteczek DMPC, tworząc średnio 4.32 wiązań z wodą i 0.01 wiązań z DMPC w temperaturze $T=310$ K. Obliczone wiązania wodorowe i kontrola wizualna uzyskanych trajektorii ujawniły, że nie istnieje struktura DMPC- β CD oparta wyłącznie na wiązaniach wodorowych.

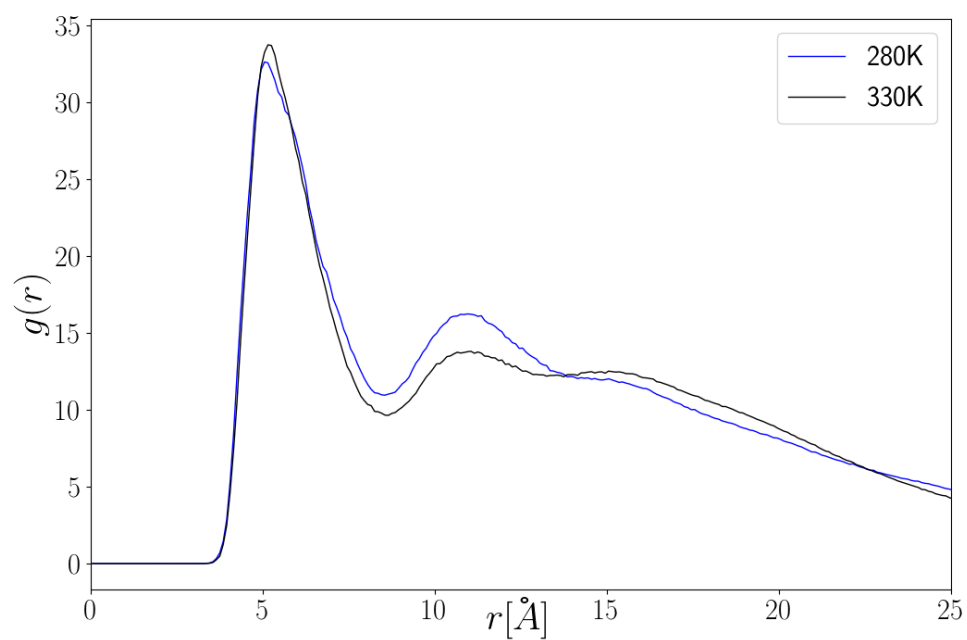
Funkcja radialnego rozkładu $g(r)$, obliczona między czwartym atomem węgla z pierścienia glukopiranozowego β CD a ostatnim atomem węgla w hydrofobowym ogonie DMPC jest pokazana na rysunku 6.3. Podczas gdy pierwszy pik funkcji radialnego rozkładu pozostaje względnie stabilny i nie porusza się ani nie zmniejsza znacząco wraz ze wzrostem temperatury, można zauważyć, że drugi pik zmniejsza się wraz z temperaturą.

Symulacje MD ujawniły tworzenie się kompleksu β CD-DMPC. Jest to kompleks inkluzyjny typu gość-gospodarz. Kompleks powstał w wyniku interakcji hydrofobowej grupy węglowodorowej cząsteczki DMPC i hydrofobowego wnętrza β CD. Jego struktura została przedstawiona na rysunku 6.4. Kompleks ten jest rozpuszczalny w wodzie i stabilny termodynamicznie. Stabilność termiczna tego kompleksu jest dodatkowo potwierdzona przez wspomnianą stabilność pierwszego piku wykresu funkcji radialnego rozkładu.

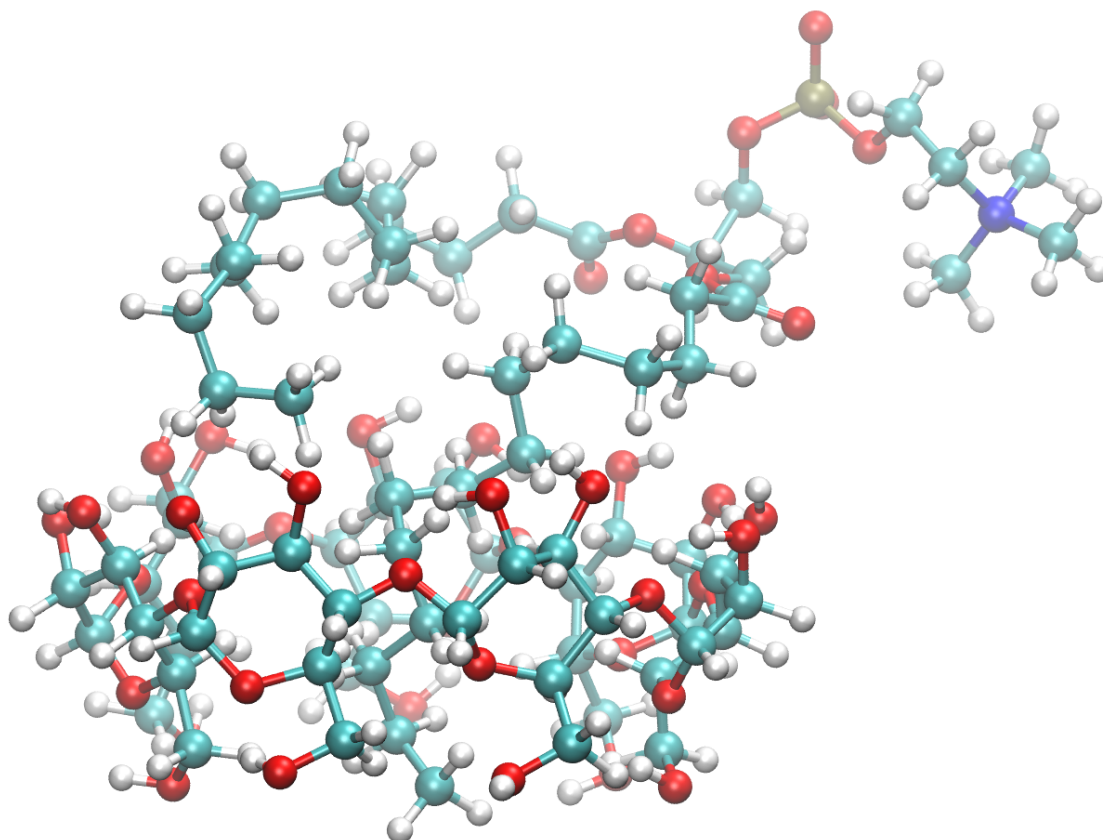
Dokonano również analizy pierwiastka średnio kwadratowego przesunięcia pozycji atomowych (RMSD) [79] w funkcji temperatury korzystając z VMD RMSD Trajectory Tool [32]. Obliczenia przeprowadzono osobno dla cząsteczek β CD i DMPC. Na rysunku 6.5 przedstawiono wykresy funkcji RMSD od temperatury dla kilku stosunków β CD:DMPC w środowisku wodnym. Uzyskane wyniki wskazują,



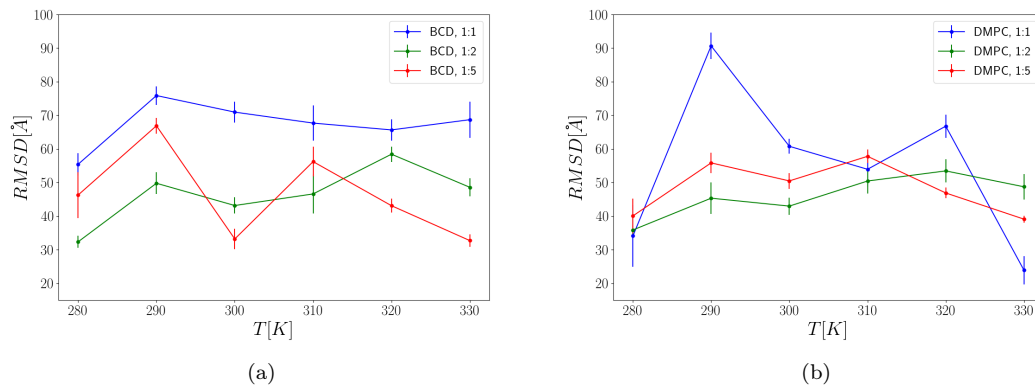
RYSUNEK 6.2: Sekwencja wizualizacji obrazujących proces transformacji początkowej mieszaniny cząsteczek β CD i DMPC w końcową, tj. miceli DMPC otoczonej przez cząsteczki β CD w środowisku wodnym w $T = 330$ K. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.



RYSUNEK 6.3: Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy czwartym atomem węgla z pierścienia glukopiranozowego β CD a ostatnim atomem węgla w hydrofobowym ogonie DMPC dla stosunku β CD:DMPC 1:2.



RYSUNEK 6.4: Struktura kompleksu β CD-DMPC.



RYSUNEK 6.5: RMSD jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:DMPC dla cząsteczek β CD i DMPC.

że ruchliwość zarówno cząsteczek DMPC, jak i β CD tylko nieznacznie zależy od temperatury w przypadku układów wodnych. Wartości RMSD są o rząd wielkości wyższe niż zwykle podawane dla układów złożonych z fosfolipidów [95, 96]. Należy jednak zauważyć, że w badanych układach stężenie fosfolipidów jest zbyt niskie, aby utworzyć stabilną strukturę lamelarną, a fosfolipidy są w stanie przemieszczać się w całej objętości badanego układu.

Przeprowadzono serię symulacji binarnych klastrów β CD-DMPC w obecności wody. W środowisku wodnym cząsteczki DMPC tworzą micele otoczone cząsteczkami β CD. Oznacza to, że w środowisku wodnym interakcje DMPC-DMPC przewyższają oddziaływania β CD-DMPC. Cząsteczki DMPC łączą się tworząc klastery, natomiast cząsteczki β -cyklodekstryny przyklejają się do jego powierzchni. Rdzeń złożony z DMPC pokryty przez β -cyklodekstryny jest stabilnym, dość specyficznym agregatem. Powłoka cząsteczek β CD-cyklodekstryny może ułatwić transport rdzenia DMPC i jego adaptację w środowisku biologicznym, otwierając tym samym perspektywę dla przyszłych zastosowań w biotechnologii i nanomedycynie. Odkryto również, że cząsteczki β -cyklodekstryny i DMPC tworzą stabilny kompleks molekularny. Wyniki obliczeń MD sugerują, że β -cyklodekstryna nie wpływa na strukturę agregatów fosfolipidowych i nie powinna negatywnie wpływać na liposomalne systemy dostarczania leków.

Rozdział 7

Wpływ β -cyklodekstryny na biomembranę

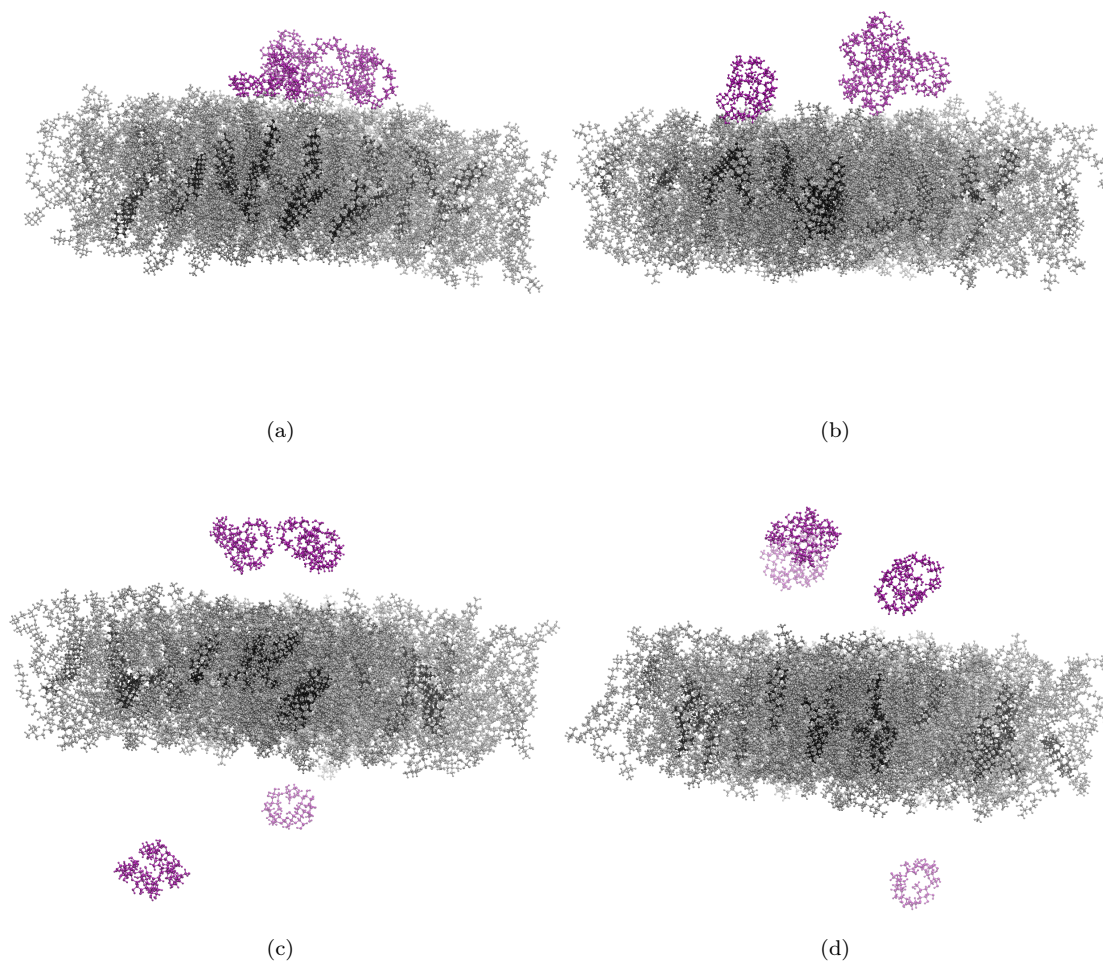
Wiele badań wykazało, że β CD zwiększa rozpuszczalność cholesterolu w wodzie, umożliwiając potencjalne zastosowanie β CD w kontekście walki z chorobą miażdżycową [44]. W kontekście potencjalnych zastosowań medycznych β CD w terapii miażdżycowej niezwykle ważne jest zbadanie wpływu β -cyklodekstryny na właściwości błony zbudowanej z fosfolipidów i cholesterolu. Metoda symulacji MD została wykorzystana do szczegółowego zbadania wpływu β CD na dwuwarstwę fosfolipidową złożoną z cząsteczek 1,2-dimirystoilu-sn-glicero-3-fosfocholiny (DMPC), oraz na taką dwuwarstwę z rozmieszczonymi cząsteczkami cholesterolu pomiędzy fosfolipidami DMPC [84].

Do przeprowadzenia symulacji metodą dynamiki molekularnej wykorzystano program NAMD oraz VMD, do wizualizacji wyników i przygotowania układu do symulacji. Do opisu oddziaływań międzycząsteczkowych użyto potencjału CHARMM. Badane układy składają się z 7 cząsteczek β CD i dwuwarstwy fosfolipidowej złożonej z cząsteczek DMPC z (dwuwarstwa 1) i bez (dwuwarstwa 2) cząsteczek cholesterolu rozproszonych między cząsteczkami fosfolipidu. Obie dwuwarstwy składają się z 232 cząsteczek DMPC, a pierwsza zawiera dodatkowo 48 cząsteczek cholesterolu. Zatem pierwsza dwuwarstwa fosfolipidowa jest większa niż druga.

Odległość obcięcia dla wszystkich oddziaływań niewiążących wynosiła 10 Å. Układy symulowano w środowisku wodnym z zastosowaniem periodycznych warunków brzegowych. Początkowe rozmiary komórki symulacyjnej wynosiły 113 x 92 x 110 Å i 114 x 101 x 122 Å. Liczba cząsteczek wody zawartych w komórce symulacyjnej wynosiła 23833 i 33563 molekuł odpowiednio dla pierwszej i drugiej dwuwarstwy. W tych symulacjach ciśnienie 1 atmosfery kontrolowano przy pomocy barostatu Langevina z okresem 100 fs i stałą czasową tłumienia 50 fs. Długozasięgowe siły elektrostatyczne zostały uwzględnione za pomocą metody Particle Mesh Ewald [22]. Symulacje omówione w pracy były równoważono w zespole NPT (stała liczba cząstek, stałe ciśnienie i temperatura). Krok czasowy dla każdej symulacji wynosił $\Delta t = 1fs$. Do całkowania równań ruchu został wykorzystany standardowy algorytm (algorytm Brünger–Brooks–Karplus) zaimplementowany w NAMD [77]. Następnie, celem wyznaczenia wielkości makroskopowych charakteryzujących układ zbierano dane dotyczące trajektorii co 2000 kroków symulacji (2 ps) przez 30 ns. Układy symulowane były w temperaturach: 280, 290, 300, 310, 320, 330 K. Dla każdej temperatury przeprowadzono pięć niezależnych przebiegów symulacji. Badane układy były termostatowane za pomocą termostatu Langevina o współczynniku tłumienia $1ps^{-1}$. W symulacjach wykorzystano model wody TIP3P CHARMM [78]. Wszystkie cząsteczki użyte w naszych badaniach zostały zamodelowane na poziomie atomistycznym.

Początkowa konfiguracja systemu powstała poprzez umieszczenie siedmiu cząsteczek β CD na dwuwarstwie fosfolipidowej złożonej z cząsteczek DMPC z (układ 1) i bez (układ 2) cząsteczek cholesterolu rozproszonymi pomiędzy fosfolipidami, a następnie przeprowadzono symulacje MD. Na rysunkach 7.1 i 7.2 pokazano sekwencję konfiguracji układu 1 i 2, przy $T = 310$ K.

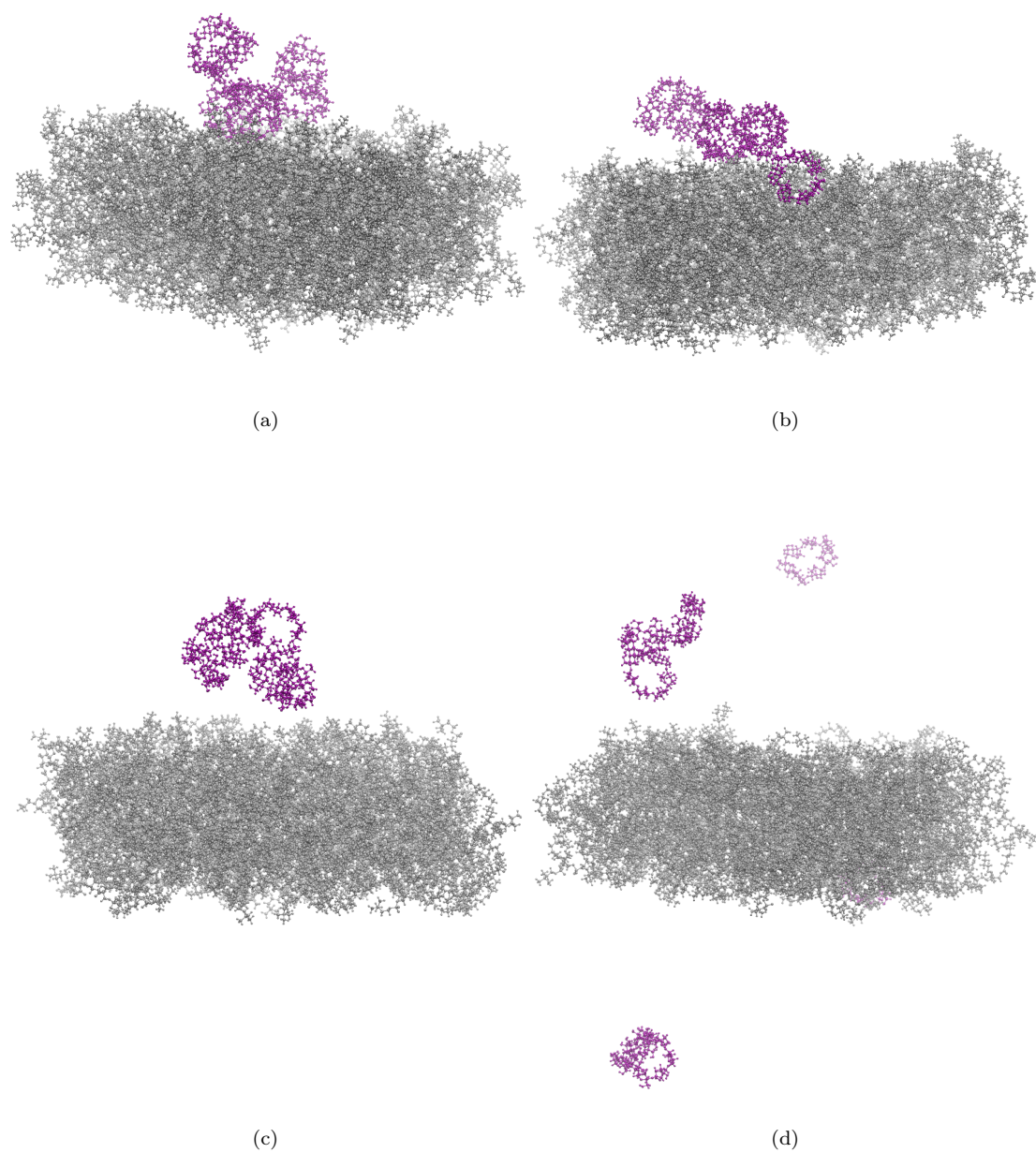
Zaobserwowano, że cząsteczki β CD nie mają tendencji do przylegania do powierzchni membrany i poruszają się po całej objętości układu. Obliczono pierwiastek ze średniego kwadratu przesunięcia pozycji atomowych (RMSD) [79] korzystając z VMD RMSD Trajectory Tool [32]. Obliczenia przeprowadzono osobno dla cząsteczek β CD i DMPC. Na rysunku 7.3 przedstawiono wykresy RMSD w



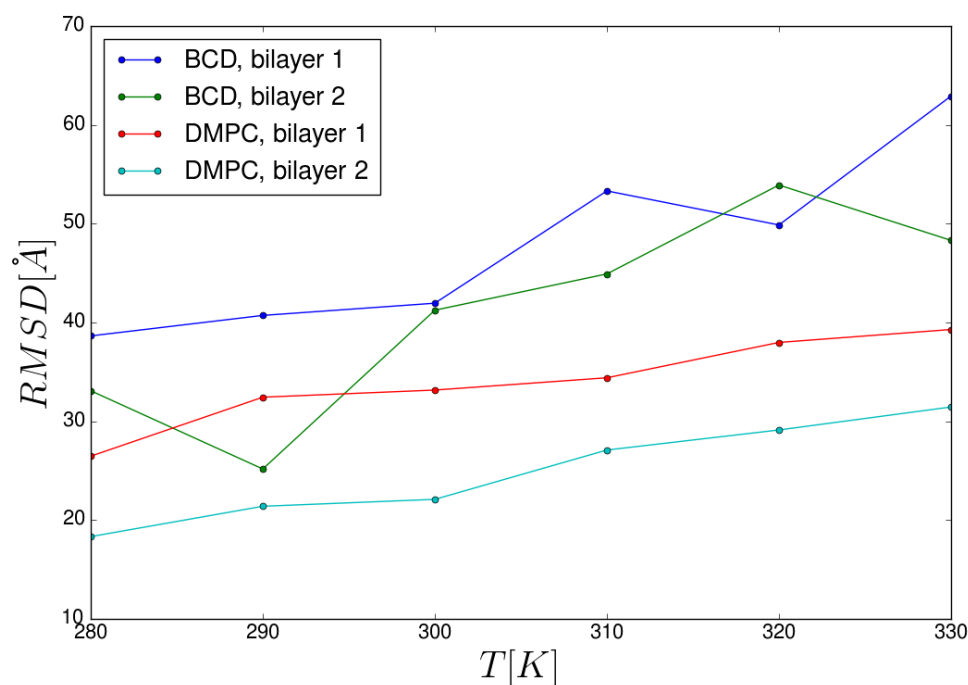
RYSUNEK 7.1: Sekwencja wizualizacji obrazujących system 1, dla $T = 310$ K. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.

funkcji temperatury. Cząsteczki DMPC w dwuwarstwie bez cholesterolu wydają się być mniej ruchliwe.

Wyznaczona została średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy cząsteczkami β CD-woda, β CD- β CD i β CD-DMPC. Obliczenia wykazały, że cząsteczki β CD mają większe powinowactwo do wody i innych cząsteczek β CD niż do cząsteczek DMPC. Obliczone wiązania wodorowe i kontrola wizualna uzyskanych trajektorii ujawniły, że nie istnieje stabilna struktura β CD – fosfolipid/cholesterol oparta na wiązaniach wodorowych.



RYSUNEK 7.2: Sekwencja wizualizacji obrazujących system 2, dla $T = 310$ K. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.

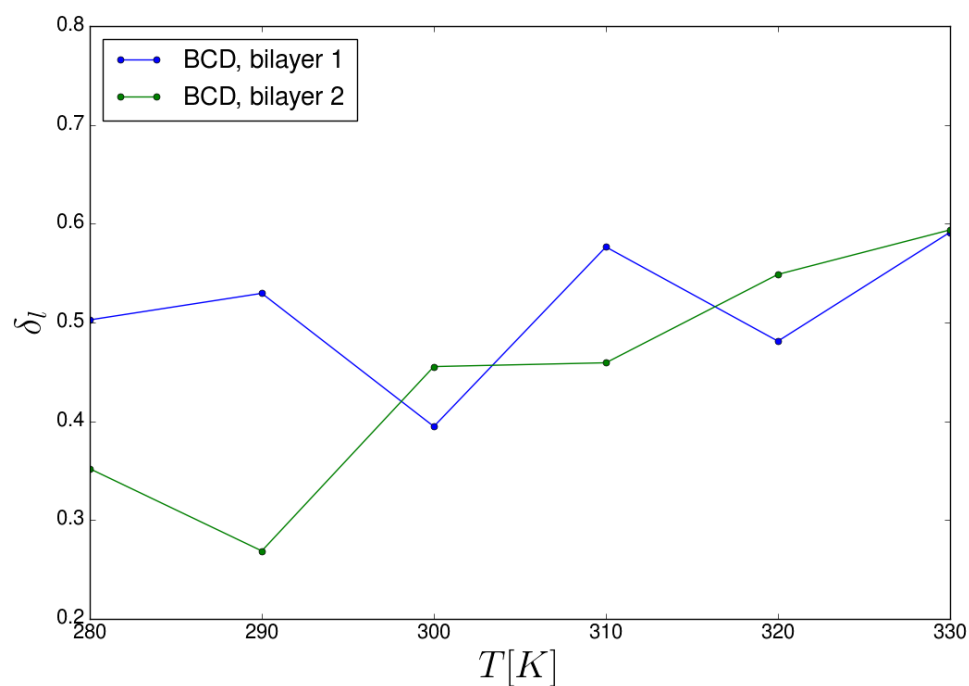


RYSUNEK 7.3: RMSD jako funkcja temperatury dla cząsteczek β CD i DMPC.

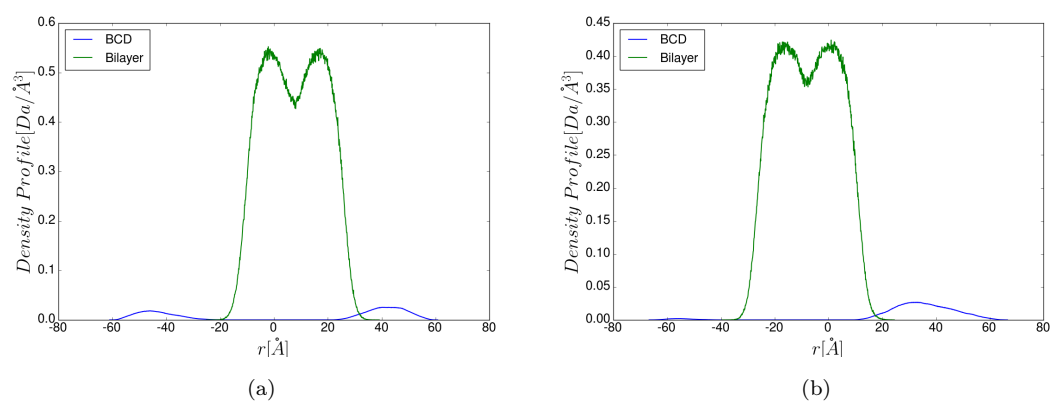
Kolejny rysunek (7.4) pokazuje zależność temperaturową indeksu Lindemanna δ_L cząsteczek β CD.

Na rysunkach 7.5 i 7.6 widnieje profil gęstości w kierunku osi z dla cząsteczek β CD i dwuwarstw fosfolipidowych. Cząsteczki β CD nie wnikaają do błony, a także nie ekstrahują z niej cząsteczek DMPC ani cholesterolu. Cząsteczki β CD zwiększają rozpuszczalność cholesterolu w wodzie [97], będąc jednocześnie neutralne w stosunku do błony.

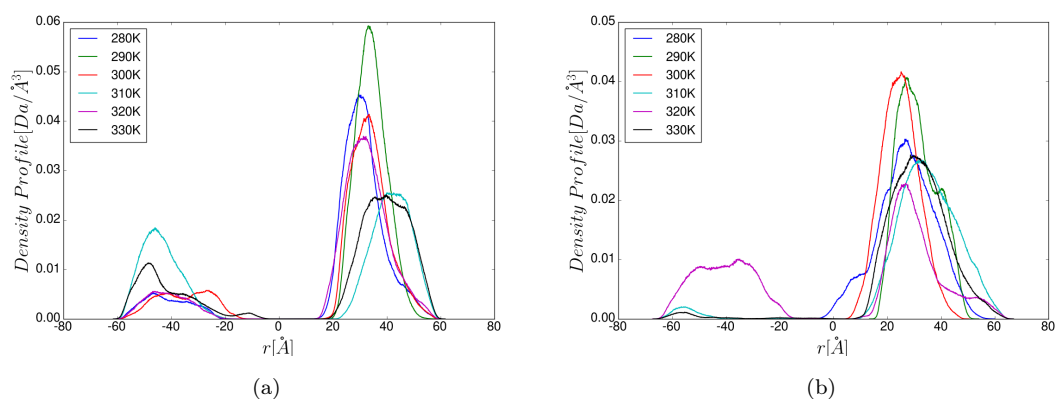
Przeprowadzono symulacje dynamiki molekularnej wpływu cząsteczek β -cyklodekstryny na dwuwarstwę fosfolipidową. Aby naśladować bliżej biomembranę żywych komórek, symulowano dwuwarstwę fosfolipidową złożoną z cząsteczek 1,2-dimirystoil-sn-glicero-3-fosfocholiny (DMPC) z oraz bez cząsteczek cholesterolu wśród nich. Model błony umieszczono w środowisku wodnym. Symulacje komputerowe pokazują, że w obserwowanej skali czasowej cząsteczki β CD nie ekstrahują DMPC ani



RYSUNEK 7.4: Indeks Lindemanna dla cząsteczek β CD w obecności dwuwarstwy fosfolipidowej.



RYSUNEK 7.5: Profil gęstości w kierunku osi z dla cząsteczek β CD oraz a) dwuwarstwy 1, b) dwuwarstwy 2, dla $T = 310K$.



RYSUNEK 7.6: Profil gęstości w kierunku osi z cząsteczek β CD dla a) układu 1, b) układu 2.

cząsteczek cholesterolu z błony. Co więcej, cząsteczki β -cyklodekstryny nie przenikają do błony komórkowej (dwuwarstwa fosfolipidowa). Jest to bardzo pożądana okoliczność. Cząsteczki β CD, neutralne dla biomembrany, zwiększają rozpuszczalność cholesterolu w wodzie. Ta obserwacja udokumentowana powyżej stanowi podwaliny pod przyszłe użycie β CD w kontekście poszukiwania nowych narzędzi operujących w nanoskali, do walki z chorobą miażdżycową.

Rozdział 8

Podsumowanie

Przeprowadzono analizę oddziaływania β -cyklodekstryny z wybranymi lipidami i nanostrukturami węglowymi w środowisku wodnym. Jako narzędzie badawcze wybrano nowoczesną technikę symulacji komputerowych MD (molecular dynamics), która szczegółowo obrazuje dynamikę atomów bądź molekuł tworzących dany układ fizyczny.

Badając wpływ β -cyklodekstryny na złóg cholesterolowy pokazano, iż w wyniku oddziaływania β -cyklodekstryny z cholesterolem tworzą się dwa typy kompleksów. Kompleks typu 1 (łańcuch węglowodorowy cholesterolu oddziałuje z wnętrzem β CD) jest preferowany w środowisku wodnym, natomiast kompleks typu 2 (oddziaływanie czterech skondensowanych pierścieni węglowodorowych cholesterolu połączonych z grupą OH z wnętrzem β CD) jest preferowany w środowisku bezwodnym. W kompleksie 1 grupa -OH cholesterolu pozostaje poza β -cyklodekstryną. Mimo iż grupa -OH cholesterolu jest niewielka, w porównaniu do wielkości całej cząsteczki to oddziałuje ona z cząsteczkami wody przez co kompleks 1 jest bardziej korzystny energetycznie w środowisku wodnym niż kompleks 2. Oba kompleksy są rozpuszczalne w wodzie i stabilne termodynamicznie. Dzięki temu możliwy jest transport cholesterolu w środowisku wodnym. Biorąc dodatkowo pod uwagę dobrą biokompatybilność takiego układu, powoduje to, że β -cyklodekstryna i jej pochodne mogą być rozważane jako potencjalni kandydaci na leki przeciwniażdżycowe nowej generacji.

Ciekawe okazały się własności grafenu pokrytego cienką warstwą molekuł β -cyklodekstry. Symulacje wskazują, że zarówno w obecności, jak i przy braku wody cząsteczki β CD pokrywają powierzchnię grafenu, ale nie są silnie związane z pojedynczymi centrami adsorpcji. Ruch β CD po arkuszu grafenu (dyfuzja dwuwymiarowa) jest stosunkowo łatwy, natomiast ruch w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu jest silnie ograniczony. Cząsteczki β CD tworzą dwuwymiarową fazę ciekłą na powierzchni grafenu. Cienka warstwa utworzona na grafenie przez molekuły β CD pozostaje stosunkowo stabilna w środowisku wodnym i w szerokim, istotnym z punktu widzenia zastosowań biotechnologicznych zakresie temperatur. Grafen pokryty warstwą β -cyklodekstryny jest hydrofilowy, co jest ważną i pożądaną cechą przy rozważaniu zastosowań biomedycznych. Efekt ten powinien znacznie zwiększyć biokompatybilność grafenu, otwierając nowe pola dla praktycznych zastosowań udekorowanego grafenu w nanomedycynie, do transportu leków itp.

Przeprowadzono również serię symulacji binarnych klastrów składających się z fosfolipidów DMPC i molekuł β CD, w obecności wody. W środowisku wodnym cząsteczki DMPC tworzą micle otoczone cząsteczkami β CD. Oznacza to, że w środowisku wodnym interakcje DMPC-DMPC przewyższają oddziaływania β CD-DMPC. Cząsteczki DMPC łączą się tworząc rdzeń klastra, natomiast cząsteczki β -cyklodekstryny przyklejają się do jego powierzchni. Rdzeń złożony z DMPC pokryty przez β -cyklodekstryny jest stabilny. Odkryto również, że pojedyncza cząsteczka β -cyklodekstryny i fosfolipidu DMPC tworzą stabilny kompleks molekularny. Wyniki obliczeń MD sugerują, że β -cyklodekstryna nie wpływa na strukturę agregatów fosfolipidowych i nie powinna negatywnie wpływać na liposomalne systemy dostarczania leków.

Badano również wpływ cząsteczek β -cyklodekstryny na dwuwarstwą fosfolipidową. Aby naśladować bliżej biomembranę żywych komórek, symulowano dwuwarstwą fosfolipidową złożoną z cząsteczek 1,2-dimirystoilo-sn-glicero-3-fosfocholiny (DMPC) z i bez cząsteczek cholesterolu wśród nich. Model błony umieszczono w środowisku wodnym. Symulacje MD pokazują, że cząsteczki β CD nie wyciągają zarówno fosfolipidów DMPC, jak i cząsteczek cholesterolu z błony. Co więcej,

cząsteczki β -cyklodekstryny nie przenikają do błony komórkowej (dwuwarstwa fosfolipidowa). Jest to bardzo pożądana okoliczność. Cząsteczki β CD, neutralne dla biomembrany, zwiększają rozpuszczalność cholesterolu w wodzie. Ta obserwacja udokumentowana powyżej może stanowić podwaliny pod przyszłe użycie β CD w kontekście poszukiwania nowych narzędzi operujących w nanoskali, do walki z chorobą miażdżycową.

Spis rysunków

3.1	Wzór strukturalny cząsteczki β -cyklodekstryny.	17
3.2	Wzór strukturalny cząsteczki cholesterolu.	23
3.3	Wzór strukturalny cząsteczki 1,2-dimyristoil-sn-glikero-3-fosfocholiny (DMPC).	24
4.1	Struktura molekuly β -cyklodekstryny – wizualizacja VMD.	31
4.2	Struktura molekuly cholesterolu – wizualizacja VMD.	32
4.3	Konfiguracja równowagowa β CD-cholesterol dla a) środowiska bezwodnego i b) środowiska wodnego w $T = 320$ K. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.	34
4.4	Sekwencja wizualizacji obrazujących proces transformacji początkowej struktury kanapkowej w końcową, tj. klastra cholesterolowego otoczonego przez cząsteczki β CD w środowisku wodnym w $T = 320$ K. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.	35
4.5	Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy atomem wodoru z drugorzędowej grupy -OH β -cyklodekstryny a atomem tlenu z wody, dla stosunku β CD:cholesterol a) 1:1, b) 1:5 w zakresie temperatur 280-330 K w układzie wodnym.	36
4.6	Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol. Wiązania wodorowe są liczone pomiędzy cząsteczkami β CD i wody.	37
4.7	Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol. Wiązania wodorowe są liczone pomiędzy cząsteczkami β CD i cholesterolu w środowisku bezwodnym.	38
4.8	Rodzaje kompleksów: a) Kompleks 1: Grupa węglowodorowa cząsteczki cholesterolu znajduje się we wnętrzu β CD, b) Kompleks 2: Grupa -OH cząsteczki cholesterolu znajduje się we wnętrzu β CD.	39
4.9	Procentowa zawartość kompleksów β CD-cholesterol w funkcji czasu, z rozróżnieniem rodzaju kompleksu. Są to pojedyncze serie symulacji, które otrzymano dla układu bezwodnego, przy stosunku β CD:cholesterol 1:5 w $T = 320$ K.	40
4.10	Procentowa zawartość kompleksów β CD-cholesterol w funkcji czasu, z rozróżnieniem rodzaju kompleksu. Są to pojedyncze serie symulacji, które otrzymano dla układu wodnego, przy stosunku β CD:cholesterol 1:2 w $T = 330$ K.	41

4.11	Średnia procentowa zawartość kompleksu typu 1 jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol : a) środowisko bezwodne, b) środowisko wodne. Na skali pionowej (0,0 – 30,0 %) wykres w punkcie a) jest praktycznie płaski, dlatego umieszczono wstawkę z mniejszą skalą (0,0 – 0,1 %).	42
4.12	Średnia procentowa zawartość kompleksu typu 2 jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol : a) środowisko bezwodne, b) środowisko wodne.	43
4.13	RMSD jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol (układ bezwodny) dla cząsteczek a) β CD i b) cholesterolu.	45
4.14	RMSD jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:cholesterol (układ wodny) dla cząsteczek a) β CD i b) cholesterolu.	46
4.15	Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy atomem tlenu cholesterolu i atomem tlenu z pierwszorzędowej grupy -OH β -cyklodekstryny dla dwóch stosunków β CD:cholesterol: a) 1:1 i b) 1:5, w zakresie temperatur 280-330 K, dla środowiska bezwodnego.	47
5.1	Wygląd symulowanego układu. Cząsteczki wody nie są pokazane dla przejrzystości obrazu.	50
5.2	Konfiguracje równowagowe cząsteczek β CD na grafenie w środowisku wodnym dla a) niskiej, b) wysokiej koncentracji β CD. Cząsteczki wody nie są pokazane dla przejrzystości obrazu.	51
5.3	Ułożenie cząsteczki β CD na płaszczyźnie grafenu a) strona 1, b) strona 2.	51
5.4	Średnie kwadratowe przesunięcie β -cyklodekstryny w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu: a) niska koncentracja (strona 1), b) niska koncentracja (strona 2), c) wysoka koncentracja (strona 1), d) wysoka koncentracja (strona 2).	52
5.5	Średnie kwadratowe przesunięcie β -cyklodekstryny w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu: a) niska koncentracja (strona 1), b) niska koncentracja (strona 2), c) wysoka koncentracja (strona 1), d) wysoka koncentracja (strona 2).	53
5.6	Średnie kwadratowe przesunięcie β CD w kierunku równoległym i prostopadłym do płaszczyzny grafenu.	54
5.7	Aktywacja termiczna dyfuzji translacyjnej w kierunku prostopadłym do płaszczyzny grafenu.	55
5.8	Aktywacja termiczna dyfuzji translacyjnej w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu.	55
5.9	Indeks Lindemanna dla cząsteczek β CD na warstwie grafenowej w środowisku wodnym.	57
5.10	Energia interakcji oddziaływań niezwiązanych pomiędzy atomami węgla arkusza grafenowego i cząsteczek β CD.	57
5.11	Profil gęstości dla cząsteczek β CD w kierunku osi z przy wysokiej koncentracji β CD i początkowego ułożenia na warstwie grafenowej a) stroną 1, b) stroną 2.	58

5.12	Profil gęstości cząsteczek β CD w kierunku osi z dla wysokiej koncentracji β CD i $T = 280\text{K}$	58
5.13	Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy cząsteczkami β CD a cząsteczkami wody.	59
5.14	Średnia liczba wiązań wodorowych na jedną cząsteczkę β CD w funkcji temperatury. Wiązania wodorowe są obliczane pomiędzy cząsteczkami β CD a β CD.	59
5.15	Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy atomami węgla z warstwy grafenowej a atomami tlenu z pierwszorzędowej grupy -OH β CD dla początkowej orientacji β CD na stronie 1 i niskiej koncentracji β CD. Dodatkowy wykres przedstawia funkcję radialnego rozkładu pomiędzy atomami węgla z warstwy grafenowej a atomami tlenu z drugorzędowej grupy -OH β CD dla początkowej orientacji β CD na stronie 2 i niskiej koncentracji.	61
5.16	Sekwencja wizualizacji obrazujących kolejne etapy osiadania pojedynczej molekuly β CD na powierzchni grafenowej i jej reorientacji z strony 1 na 2. Cząsteczki wody i inne cząsteczki β CD nie są pokazane dla przejrzystości obrazu.	62
5.17	Indeks Lindemanna dla cząsteczek β CD na warstwie grafenowej w środowisku bezwodnym.	63
5.18	Współczynniki dyfuzji translacyjnej cząsteczek β CD w kierunku równoległym do płaszczyzny grafenu w środowisku bezwodnym. . .	63
6.1	Struktura cząsteczki DMPC – wizualizacja VMD	67
6.2	Sekwencja wizualizacji obrazujących proces transformacji początkowej mieszaniny cząsteczek β CD i DMPC w końcową, tj. miceli DMPC otoczonej przez cząsteczki β CD w środowisku wodnym w $T = 330\text{ K}$. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu. . . .	69
6.3	Funkcja radialnego rozkładu pomiędzy czwartym atomem węgla z pierścienia glukopiranozowego β CD a ostatnim atomem węgla w hydrofobowym ogonie DMPC dla stosunku β CD:DMPC 1:2.	70
6.4	Struktura kompleksu β CD-DMPC.	70
6.5	RMSD jako funkcja temperatury dla różnych stosunków β CD:DMPC dla cząsteczek β CD i DMPC.	71
7.1	Sekwencja wizualizacji obrazujących system 1, dla $T = 310\text{ K}$. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.	74
7.2	Sekwencja wizualizacji obrazujących system 2, dla $T = 310\text{ K}$. Cząsteczki wody usunięto dla przejrzystości obrazu.	75
7.3	RMSD jako funkcja temperatury dla cząsteczek β CD i DMPC. . . .	76
7.4	Indeks Lindemanna dla cząsteczek β CD w obecności dwuwarstwy fosfolipidowej.	77
7.5	Profil gęstości w kierunku osi z dla cząsteczek β CD oraz a) dwuwarstwy 1, b) dwuwarstwy 2, dla $T = 310\text{K}$	77

7.6	Profil gęstości w kierunku osi z cząsteczek β CD dla a) układu 1, b) układu 2.	78
-----	--	----

Dodatek A

Spis publikacji

- (A.1) Makiela D., Mańska M.M., „Spontaneous Currents in a Bosonic Ring”, Acta Physica Polonica A, Vol. 130, 569, 2016.
- (A.2) Makiela D., Raczyński P., Gburski Z. “The Dynamics of Water Molecules Confined in the Interior of DMPC Phospholipid Reverse Micelle.” Chapter 6 in book Nanochemistry, Biotechnology, Nanomaterials, and Their Applications. NANO 2017. Springer Proceedings in Physics, vol 214, p. 89 - 98, Springer International Publishing AG part of Springer Nature 2018.
- (A.3) Makiela D., Janus-Zygmunt I., Górny K., Gburski Z. “Investigation of the influence of β -cyclodextrin on cholesterol lodgement - A molecular dynamics simulation study”, Journal of Molecular Liquids, vol 262, (2018) 451-459.
- (A.4) Makiela D., Janus-Zygmunt I., Górny K., Gburski Z. "The dynamics of β -cyclodextrin molecules on graphene sheet. A molecular dynamics simulation study", Journal of Molecular Liquids, vol 288, (2019) 110974.
- (A.5) Makiela D., Górny K., Gburski Z. "The effect of β -cyclodextrin on the formation of phospholipid micelles. A molecular dynamics simulation study", D. Makiela, K. Górny, Z. Gburski, Acta Physica Polonica A, przyjęta do druku

Dodatek B

Spis konferencji

1. XXXVIII International Conference of Theoretical Physics Correlations and Coherence at Different scales, 2014, Ustroń, Polska.
2. From Spins to Cooper Pairs: New Physics of the Spins 2014, Zakopane, Polska.
3. Finite-Temperature Non-Equilibrium Superfluid Systems 2015, Sopot, Polska.
4. XVII National Conference on Superconductivity, Superconductivity and other emergent states in systems with strongly correlated electrons, 2015, Karpacz, Polska.
5. Intel Code Modernization Workshop, 2017, Poznań, Polska.
6. 44 Zjazd Fizyków Polskich, 2017, Wrocław, Polska.
7. Konferencja Użytkowników Komputerów Dużej Mocy, 2018, Zakopane, Polska.
8. 6th International Conference Nanotechnology and Nanomaterials (NANO2018), 2018, Kyiv, Ukraine
9. Intel Software Developer Workshop for Technical Computing and Artificial Intelligence, 2018, Kraków, Polska.

Bibliografia

- [1] Dieter W Heermann. *Podstawy symulacji komputerowych w fizyce*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, 1997.
- [2] Nicholas Metropolis, Arianna W Rosenbluth, Marshall N Rosenbluth, Augusta H Teller, and Edward Teller. Equation of state calculations by fast computing machines. *The Journal of Chemical Physics*, 21(6):1087–1092, 1953.
- [3] Stanislaw Ulam, Robert D Richtmyer, and John von Neumann. Statistical methods in neutron diffusion. *Los Alamos Scientific Laboratory report*, 1947.
- [4] Nicholas Metropolis and Stanislaw Ulam. The monte carlo method. *Journal of the American statistical association*, 44(247):335–341, 1949.
- [5] Enrico Fermi, P Pasta, S Ulam, and M Tsingou. Studies of the nonlinear problems. Technical report, Los Alamos Scientific Lab., N. Mex., 1955.
- [6] Berni J Alder and Thomas Everett Wainwright. Studies in molecular dynamics. general method. *The Journal of Chemical Physics*, 31(2):459–466, 1959.
- [7] Aneesur Rahman. Correlations in the motion of atoms in liquid argon. *Physical Review*, 136(2A):A405–A411, 1964.
- [8] Loup Verlet. Computer" experiments" on classical fluids. i. thermodynamical properties of lennard-jones molecules. *Physical Review*, 159(1):98, 1967.
- [9] William C Swope, Hans C Andersen, Peter H Berens, and Kent R Wilson. A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants

- for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters. *The Journal of Chemical Physics*, 76(1):637–649, 1982.
- [10] Frank H Stillinger and Aneesur Rahman. Improved simulation of liquid water by molecular dynamics. *The Journal of Chemical Physics*, 60(4):1545–1557, 1974.
- [11] Hans C Andersen. Molecular dynamics simulations at constant pressure and/or temperature. *The Journal of Chemical Physics*, 72(4):2384–2393, 1980.
- [12] Shuichi Nosé. A unified formulation of the constant temperature molecular dynamics methods. *The Journal of Chemical Physics*, 81(1):511–519, 1984.
- [13] William G Hoover. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical Review A*, 31(3):1695–1697, 1985.
- [14] Richard Car and Mark Parrinello. Unified approach for molecular dynamics and density-functional theory. *Physical Review Letters*, 55(22):2471, 1985.
- [15] Scott E Feller and Alexander D MacKerell. An improved empirical potential energy function for molecular simulations of phospholipids. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(31):7510–7515, 2000.
- [16] Sandeep Patel, Alexander D Mackerell Jr, and Charles L Brooks III. Charmm fluctuating charge force field for proteins: Ii protein/solvent properties from molecular dynamics simulations using a nonadditive electrostatic model. *Journal of Computational Chemistry*, 25(12):1504–1514, 2004.
- [17] Romelia Salomon-Ferrer, David A Case, and Ross C Walker. An overview of the amber biomolecular simulation package. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 3(2):198–210, 2013.
- [18] David A Case, Thomas E Cheatham III, Tom Darden, Holger Gohlke, Ray Luo, Kenneth M Merz Jr, Alexey Onufriev, Carlos Simmerling, Bing Wang, and Robert J Woods. The amber biomolecular simulation programs. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16):1668–1688, 2005.

- [19] P. P. Ewald. Die berechnung optischer und elektrostatischer gitterpotentiale. *Annalen der Physik*, 369(3):253–287, 1921.
- [20] A Bródka. Ewald summation method with electrostatic layer correction for interactions of point dipoles in slab geometry. *Chemical Physics Letters*, 400(1-3):62–67, 2004.
- [21] A Bródka and A Grzybowski. Electrostatic interactions in computer simulations of a three-dimensional system periodic in two directions: Ewald-type summation. *The Journal of Chemical Physics*, 117(18):8208–8211, 2002.
- [22] Tom Darden, Darrin York, and Lee Pedersen. Particle mesh ewald: An $n \log(n)$ method for ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics*, 98(12):10089–10092, 1993.
- [23] A. Dawid. *Przetwarzanie współbieżne w symulacjach komputerowych z wykorzystaniem architektury CUDA*. Prace Naukowe Akademii WSB. Wydawnictwo Naukowe Akademii WSB, 2018.
- [24] Dennis C Rapaport and Dennis C Rapaport Rapaport. *The art of molecular dynamics simulation*. Cambridge University Press, 2004.
- [25] Daan Frenkel and Berend Smit. *Understanding molecular simulation: from algorithms to applications*, volume 1. Elsevier, 2001.
- [26] Axel Brünger, Charles L Brooks III, and Martin Karplus. Stochastic boundary conditions for molecular dynamics simulations of st2 water. *Chemical Physics Letters*, 105(5):495–500, 1984.
- [27] Glenn J Martyna, Douglas J Tobias, and Michael L Klein. Constant pressure molecular dynamics algorithms. *The Journal of Chemical Physics*, 101(5):4177–4189, 1994.
- [28] Scott E Feller, Yuhong Zhang, Richard W Pastor, and Bernard R Brooks. Constant pressure molecular dynamics simulation: the langevin piston method. *The Journal of Chemical Physics*, 103(11):4613–4621, 1995.

- [29] Herman JC Berendsen, JPM van Postma, Wilfred F van Gunsteren, ARHJ DiNola, and JR Haak. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*, 81(8):3684–3690, 1984.
- [30] Kaiwang Zhang, G Malcolm Stocks, and Jianxin Zhong. Melting and premelting of carbon nanotubes. *Nanotechnology*, 18(28):285703, 2007.
- [31] A Piatek, A Dawid, and Z Gburski. The existence of a plastic phase and a solid–liquid dynamical bistability region in small fullerene cluster (c60) 7: molecular dynamics simulation. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18(37):8471, 2006.
- [32] William Humphrey, Andrew Dalke, and Klaus Schulten. VMD – Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14:33–38, 1996.
- [33] Erich Sackmann. Biological membranes architecture and function. *Structure and Dynamics of Membranes*, 1:1–63, 1995.
- [34] Tomasz Róg, Marta Pasenkiewicz-Gierula, Ilpo Vattulainen, and Mikko Karttunen. Ordering effects of cholesterol and its analogues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788(1):97 – 121, 2009. Lipid Interactions, Domain Formation, and Lateral Structure of Membranes.
- [35] Zygmunt Gburski, Krzysztof Górny, and Przemysław Raczyński. The impact of a carbon nanotube on the cholesterol domain localized on a protein surface. *Solid State Communications*, 150(9-10):415–418, 2010.
- [36] Alan Finkelstein and Albert Cass. Effect of cholesterol on the water permeability of thin lipid membranes. *Nature*, 216(5116):717, 1967.
- [37] Przemysław Raczyński, Krzysztof Gorny, Mateusz Pabiszczak, and Zygmunt Gburski. Nanoindentation of biomembrane by carbon nanotubes – MD simulation. *Computational Materials Science*, 70:13–18, 2013.
- [38] John D Brunzell, Michael Davidson, Curt D Furberg, Ronald B Goldberg, Barbara V Howard, James H Stein, and Joseph L Witztum. Lipoprotein

- management in patients with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*, 31(4):811–822, 2008.
- [39] Peter Duewell, Hajime Kono, Katey J. Rayner, Cherilyn M. Sirois, Gregory Vladimer, Franz G. Bauernfeind, George S. Abela, Luigi Franchi, Gabriel Nñez, Max Schnurr, Terje Espevik, Egil Lien, Katherine A. Fitzgerald, Kenneth L. Rock, Kathryn J. Moore, Samuel D. Wright, Veit Hornung, and Eicke Latz. Nlrp3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*, 464(7293):1357–1361, 4 2010.
- [40] Frederick J Sheedy, Alena Grebe, Katey J Rayner, Parisa Kalantari, Bhama Ramkhelawon, Susan B Carpenter, Christine E Becker, Hasini N Ediriweera, Adam E Mullick, Douglas T Golenbock, et al. Cd36 coordinates nlrp3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nature Immunology*, 14(8):812–820, 2013.
- [41] Theophanes E Raptis, Vasilios E Raptis, and Jannis Samios. New effective method for quantitative analysis of diffusion jumps, applied in molecular dynamics simulations of small molecules dispersed in short chain systems. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(49):13683–13693, 2007.
- [42] Jennifer G Robinson, Michel Farnier, Michel Krempf, Jean Bergeron, G r ald Luc, Maurizio Averna, Erik S Stroes, Gisle Langslet, Frederick J Raal, Mahfouz El Shahawy, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *New England Journal of Medicine*, 372(16):1489–1499, 2015.
- [43] Przemys law Raczy nski, Krzysztof G rny, Jannis Samios, and Zygmunt Gburski. Interaction between silicon carbide nanotube and cholesterol domain. a molecular dynamics simulation study. *The Journal of Physical Chemistry C*, 118(51):30115–30119, 2014.

- [44] Sebastian Zimmer, Alena Grebe, Siril Bakke, Niklas Bode, Bente Halvorsen, Thomas Ulas, Mona Skjelland, Dominic De Nardo, Larisa Labzin, Anja Kerk-siek, Chris Hempel, Michael Heneka, Victoria Hawxhurst, Michael Fitzgerald, Jonel Trebicka, I Bjorkhem, J.-A Gustafsson, Marit Westerterp, Alan R. Tall, and Eicke Latz. Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming. *Science Translational Medicine*, 8:333ra50–333ra50, 04 2016.
- [45] EM Martin Del Valle. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 39(9):1033–1046, 2004.
- [46] Thorsteinn Loftsson and Marcus E Brewster. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: effects on drug permeation through biological membranes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(9):1119–1135, 2011.
- [47] G. Astray, C. Gonzalez-Barreiro, J.C. Mejuto, R. Rial-Otero, and J. Simal-Gándara. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23(7):1631 – 1640, 2009.
- [48] Kristina E Kitko, Tu Hong, Roman M Lazarenko, Da Ying, Ya-Qiong Xu, and Qi Zhang. Membrane cholesterol mediates the cellular effects of monolayer graphene substrates. *Nature Communications*, 9(1):796, 2018.
- [49] Wasinee Khuntawee, Peter Wolschann, Thanyada Rungrotmongkol, Jirasak Wong-ekkabut, and Supot Hannongbua. Molecular dynamics simulations of the interaction of beta cyclodextrin with lipid bilayer. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55, 08 2015.
- [50] Michalis Chalaris and Jannis Samios. Computer simulation studies of the liquid mixtures water-dimethylsulfoxide using different effective potential models: Thermodynamic and transport properties. *Journal of Molecular Liquids*, 98:401–411, 2002.

- [51] Yongbin Zhang, Syed F. Ali, Enkeleda Dervishi, Yang Xu, Zhongrui Li, Daniel Casciano, and Alexandru S. Biris. Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neural pheochromocytoma-derived pc12 cells. *ACS Nano*, 4(6):3181–3186, 2010. PMID: 20481456.
- [52] Ken-Hsuan Liao, Yu-Shen Lin, Christopher W. Macosko, and Christy L. Haynes. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 3(7):2607–2615, 2011. PMID: 21650218.
- [53] B Brożek-Płuska, I Szymczyk, and H Abramczyk. Raman spectroscopy of phthalocyanines and their sulfonated derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 744:481–485, 2005.
- [54] Artur M. Pinto, Inês C. Gonçalves, and Fernão D. Magalhães. Graphene-based materials biocompatibility: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111:188 – 202, 2013.
- [55] D Shah and DO Micelles. Microemulsions and monolayers: Science and technology, 1998.
- [56] Hoorshad Fathi, James P Kelly, Victor R Vasquez, and Olivia A Graeve. Ionic concentration effects on reverse micelle size and stability: Implications for the synthesis of nanoparticles. *Langmuir*, 28(25):9267–9274, 2012.
- [57] Subrata Pal, Sundaram Balasubramanian, and Biman Bagchi. Identity, energy, and environment of interfacial water molecules in a micellar solution. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(22):5194–5202, 2003.
- [58] Michael Schlenkrich, Jürgen Brickmann, Alexander D MacKerell, and Martin Karplus. An empirical potential energy function for phospholipids: criteria for parameter optimization and applications. In *Biological Membranes*, pages 31–81. Springer, 1996.

- [59] SJ Marrink, DP Tieleman, and AE Mark. Molecular dynamics simulation of the kinetics of spontaneous micelle formation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(51):12165–12173, 2000.
- [60] Stéphane Abel, François-Yves Dupradeau, E Prabhu Raman, Alexander D MacKerell Jr, and Massimo Marchi. Molecular simulations of dodecyl- β -maltoside micelles in water: influence of the headgroup conformation and force field parameters. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(3):487–499, 2010.
- [61] Stephane Abel, Francois-Yves Dupradeau, and Massimo Marchi. Molecular dynamics simulations of a characteristic dpc micelle in water. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8(11):4610–4623, 2012.
- [62] Samantha A Sanders, Maria Sammalkorpi, and Athanassios Z Panagiotopoulos. Atomistic simulations of micellization of sodium hexyl, heptyl, octyl, and nonyl sulfates. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(8):2430–2437, 2012.
- [63] Tomoko Mizuguchi, Ryosuke Ishizuka, and Nobuyuki Matubayasi. Effect of diffuseness of micelle boundary on the solute distribution upon solubilization. *Chemical Physics Letters*, 624:19–23, 2015.
- [64] Andrew P Santos and Athanassios Z Panagiotopoulos. Determination of the critical micelle concentration in simulations of surfactant systems. *The Journal of Chemical Physics*, 144(4):044709, 2016.
- [65] Sadegh Faramarzi, Brittany Bonnett, Carl A Scaggs, Ashley Hoffmaster, Danielle Grodi, Erica Harvey, and Blake Mertz. Molecular dynamics simulations as a tool for accurate determination of surfactant micelle properties. *Langmuir*, 33(38):9934–9943, 2017.
- [66] Krzysztof Smalara, Artur Gieldon, Maciej Bobrowski, Jarosław Rybicki, and Cezary Czaplewski. Theoretical study of polymerization mechanism of p-xylylene based polymers. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114(12):4296–4303, 2010.

- [67] P Alejster, Wiktor Jurkowski, and I Roterman-Konieczna. Structural information involved in the interpretation of the stepwise protein folding process. In *Protein Folding in Silico*, pages 39–54. Elsevier, 2012.
- [68] Wiesław Chmielnicki, Irena Roterman-Konieczna, and Katarzyna Stapor. An improved protein fold recognition with support vector machines. *Expert Systems*, 29(2):200–211, 2012.
- [69] E. Prabhu Raman, Olgun Guvench, and Alexander D. MacKerell. Charmm additive all-atom force field for glycosidic linkages in carbohydrates involving furanoses. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(40):12981–12994, 2010. PMID: 20845956.
- [70] Jérôme Hénin and Christophe Chipot. Hydrogen-bonding patterns of cholesterol in lipid membranes. *Chemical Physics Letters*, 425(4):329–335, 2006.
- [71] Joseph B. Lim, Brent Rogaski, and Jeffery B. Klauda. Update of the cholesterol force field parameters in charmm. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(1):203–210, 2012. PMID: 22136112.
- [72] Michael C Pitman, Frank Suits, Alexander D MacKerell, and Scott E Feller. Molecular-level organization of saturated and polyunsaturated fatty acids in a phosphatidylcholine bilayer containing cholesterol. *Biochemistry*, 43(49):15318–15328, 2004.
- [73] James C. Phillips, Rosemary Braun, Wei Wang, James Gumbart, Emad Tajkhorshid, Elizabeth Villa, Christophe Chipot, Robert D. Skeel, Laxmikant Kalé, and Klaus Schulten. Scalable molecular dynamics with namd. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16):1781–1802, 2005.
- [74] James C Phillips, Rosemary Braun, Wei Wang, James Gumbart, Emad Tajkhorshid, Elizabeth Villa, Christophe Chipot, Robert D Skeel, Laxmikant Kale, and Klaus Schulten. Scalable molecular dynamics with namd. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16):1781–1802, 2005.

- [75] William Humphrey, Andrew Dalke, and Klaus Schulten. Vmd: visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14(1):33–38, 1996.
- [76] B. R. Brooks, C. L. Brooks, A. D. Mackerell, L. Nilsson, R. J. Petrella, B. Roux, Y. Won, G. Archontis, C. Bartels, S. Boresch, A. Caffisch, L. Caves, Q. Cui, A. R. Dinner, M. Feig, S. Fischer, J. Gao, M. Hodoscek, W. Im, K. Kuczera, T. Lazaridis, J. Ma, V. Ovchinnikov, E. Paci, R. W. Pastor, C. B. Post, J. Z. Pu, M. Schaefer, B. Tidor, R. M. Venable, H. L. Woodcock, X. Wu, W. Yang, D. M. York, and M. Karplus. Charmm: The biomolecular simulation program. *Journal of Computational Chemistry*, 30(10):1545–1614, 2009.
- [77] Axel Brünger, Charles L. Brooks, and Martin Karplus. Stochastic boundary conditions for molecular dynamics simulations of st2 water. *Chemical Physics Letters*, 105(5):495 – 500, 1984.
- [78] William L. Jorgensen, Jayaraman Chandrasekhar, Jeffry D. Madura, Roger W. Impey, and Michael L. Klein. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 79(2):926–935, 1983.
- [79] Evangelos A Coutsiias, Chaok Seok, and Ken A Dill. Using quaternions to calculate rmsd. *Journal of Computational Chemistry*, 25(15):1849–1857, 2004.
- [80] Sumit Goenka, Vinayak Sant, and Shilpa Sant. Graphene-based nanomaterials for drug delivery and tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 173:75–88, 2014.
- [81] Sang Kyu Lee, Hyun Kim, and Bong Sup Shim. Graphene: an emerging material for biological tissue engineering. *Carbon Letters*, 14(2):63–75, 2013.
- [82] Feng Yan, Meng Zhang, and Jinhua Li. Solution-gated graphene transistors for chemical and biological sensors. *Advanced Healthcare Materials*, 3(3):313–331, 2014.

- [83] Przemysław Raczyński, Violetta Raczyńska, Krzysztof Górny, and Zygmunt Gburski. Properties of ultrathin cholesterol and phospholipid layers surrounding silicon-carbide nanotube: MD simulations. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 580:22–30, 2015.
- [84] P Raczyński, A Dawid, and Z Gburski. The dynamics of cholesterol in cholesterol–phospholipid assembly localized near carbon nanotube surface: Md study. *Journal of Molecular Structure*, 792:212–215, 2006.
- [85] Lajos Szenté and Éva Fenyvesi. Cyclodextrin-lipid complexes: cavity size matters. *Structural Chemistry*, 28(2):479–492, 2017.
- [86] Michel Roux, Rachel Auzely-Velty, Florence Djedaini-Pilard, and Bruno Perly. Cyclodextrin-induced lipid lateral separation in dmpc membranes: 2h nuclear magnetic resonance study. *Biophysical Journal*, 82(2):813–822, 2002.
- [87] Mikhail K Grachev, Margarita A Malenkovskaya, and Larisa K Vasyanina. Nmr study of inclusion complexes formation between amphiphilic dimeric β -cyclodextrin derivative and some pharmacologically important compounds. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 83(3-4):209–214, 2015.
- [88] Jonathan P Litz, Niket Thakkar, Thomas Portet, and Sarah L Keller. Depletion with cyclodextrin reveals two populations of cholesterol in model lipid membranes. *Biophysical Journal*, 110(3):635–645, 2016.
- [89] Arnaud Joset, Angeliki Grammenos, Maryse Hoebeke, and Bernard Leyh. Investigation of the interaction between a β -cyclodextrin and dmpc liposomes: a small angle neutron scattering study. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 83(3-4):227–238, 2015.
- [90] J Mascetti, S Castano, D Cavagnat, and B Desbat. Organization of β -cyclodextrin under pure cholesterol, dmpc, or dmpg and mixed cholesterol/phospholipid monolayers. *Langmuir*, 24(17):9616–9622, 2008.

- [91] Alekos Tsamaloukas, Halina Szadkowska, Peter J Slotte, and Heiko Heerklotz. Interactions of cholesterol with lipid membranes and cyclodextrin characterized by calorimetry. *Biophysical Journal*, 89(2):1109–1119, 2005.
- [92] Jianxiang Zhang and Peter X Ma. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(9):1215–1233, 2013.
- [93] Oluwatomide Adeoye and Helena Cabral-Marques. Cyclodextrin nanosystems in oral drug delivery: a mini review. *International Journal of Pharmaceutics*, 531(2):521–531, 2017.
- [94] WG Noid. Perspective: Coarse-grained models for biomolecular systems. *The Journal of Chemical Physics*, 139(9):09B201_1, 2013.
- [95] A. L. Rabinovich, P. O. Ripatti, N. K. Balabaev, and F. A. M. Leermakers. Molecular dynamics simulations of hydrated unsaturated lipid bilayers in the liquid-crystal phase and comparison to self-consistent field modeling. *Phys. Rev. E*, 67:011909, Jan 2003.
- [96] Amy Y. Shih, Ilia G. Denisov, James C. Phillips, Stephen G. Sligar, and Klaus Schulten. Molecular dynamics simulations of discoidal bilayers assembled from truncated human lipoproteins. *Biophysical Journal*, 88(1):548 – 556, 2005.
- [97] Damian Makieła, Iwona Janus-Zygmunt, Krzysztof Górny, and Zygmunt Gburski. Investigation of the influence of β -cyclodextrin on cholesterol lodgement — a molecular dynamics simulation study. *Journal of Molecular Liquids*, 262:451 – 459, 2018.